

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR
SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Orientador: Fabio Gallas Leivas

Hirya Fernandes Pinto

Uruguaiana, dezembro de 2015

HIRYA FERNANDES PINTO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

Relatório de Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
apresentado ao curso de Medicina Veterinária,
Campus Uruguaiana da Universidade Federal
do Pampa, com requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Fabio Gallas Leivas
Médico Veterinário, Msc. Dr.

**Uruguaiana
2015**

HIRYA FERNANDES PINTO

Relatório de Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
apresentado ao curso de Medicina Veterinária,
Campus Uruguaiana da Universidade Federal
do Pampa, com requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução de bovinos

Relatório apresentado e defendido dia 10 de dezembro de 2015

Prof. Dr. Fabio Gallas Leivas
Orientador

Prof. Dra. Daniela dos Santos Brum
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

Prof. Dra. Francielli Cibin
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

Dedico este trabalho e a conclusão desta etapa, ao meu bisavô paterno, Claryntho Salles Pinto (*in memoriam*). O qual viabilizou e inspirou o meu contato com o campo, o cuidado aos animais e amor pelas coisas simples da terra.

AGRADECIMENTO

Primeiramente agradeço a Deus e meu protetor de guarda, por abençoar, proteger e intuir a convivência com pessoas especiais e iluminadas que contribuem a cada dia com a minha evolução, pessoas importantes na construção da minha trajetória.

Aos meus pais, Mirian e Ricardo, com amor pela graça da vida, pela proteção e cuidado que sempre me dedicaram. Por cultivarem a convivência no campo e valorizar, o respeito, dedicação e simplicidade. A minha irmã Hisys, por ser minha companheira nesta jornada terrena, por ser meu ombro amigo e minha apoiadora incondicional.

Aos meus familiares, tios, primos e amigas de Tupanciretã, pelas palavras e gestos de incentivo. Aos meus avós, Maria da Conceição, Ocleci Luiza e Pedro Paulo retribuo todo o carinho e compreensão que sempre me dispuseram, em todos os momentos de minha vida, obrigada por compreenderem a ausência nestes anos de graduação.

Ao meu companheiro, amigo e namorado, Giovane W. Carloto pelo carinho e otimismo, por me impulsionar a buscar o melhor caminho. Meu reconhecimento, pelo incentivo e participação ativa na construção desta etapa de crescimento e aprendizado a qual escolhemos percorrer juntos. Aos seus pais Janete e José, por me acolherem em Uruguaiana e ser uma extensão do meu lar.

Aos meus queridos mestres e orientadores de graduação, os quais foram fundamentais no desenvolver das atividades acadêmicas e na projeção das minhas escolhas. A Prof. Dra Claudia Duarte e ao Prof. Dr. Ricardo Pozzobon, por me receberem nas atividades da Clínica de Grandes Animais e Equipampa, aos demais professores da equipe e aos colegas de estágio, pela amizade construída durante estes anos, pela companhia e parceria nas horas em claro, trocando soro, passando sonda, troteando égua, auscultando motilidade, medindo parâmetros fisiológicos, trocando gelo, limpando baias e trocando curativos.

Aos meus queridos Prof. Dr. Daniela S. Brum e Prof. Dr. Fabio G. Leivas, por abrirem as portas do BIOTECH e mostrarem este mundo de oportunidades dentro das biotecnologias da reprodução, em especial e de coração agradeço ao meu orientador, pela pessoa que és, por importar-se, por ser exemplo, pela paciência e dedicação prestadas, por me apresentar o caminho, incentivar a evolução e por me encorajar a cada passo.

Aos meus amigos do BIOTECH, graduandos e mestrandos, que compartilharam comigo estes últimos anos de atividades na iniciação científica. A amizade de vocês é um

ponto especial desta trajetória, organizadamente trabalhando, aprendendo, sonhando, torcendo e vibrando juntos pelo “padrão BIOTECH de qualidade”! A Priscila, ao Paulinho, Ronan e ao Xiru, funcionários amigos, sempre sorridentes, participativos e dispostos a contribuir com o sucesso das nossas aulas e experimentos.

Ao Cainã e Fernanda, pelo carinho, atenção, acolhida e amizade, tornando meu estágio em Pelotas ainda mais proveitoso.

Aos tantos integrantes do NUPEEC, em nome do supervisor Dr. Marcio Nunes Corrêa, pela receptividade. Em especial aos pós graduandos Joabel, Diego e Andressa pela partilha de experiências, horas de atividades vivenciadas e por contribuírem com a minha formação durante minha passagem pelo grupo.

Aos amigos de Cornélio Procópio, Equipe da Geraembryo, supervisor Rubinho, ao Marinho e ao Márcio sou imensamente grata pelo valor agregado ao meu estágio, pela disponibilidade, ensinamentos, compreensão, companheirismo, cuidado, profissionalismo e amizade. Ao colega de estágio Marcus por compartilhar do aprendizado e dedicação nesta fase de aperfeiçoamento profissional.

Por fim, agradeço aos pacientes do HUVET e da Fazenda escola da UNIPAMPA. Aos que ajudamos a curar e aos que emprestaram suas vidas para que pudéssemos aprender.

“Homens e animais. Se aos primeiros, por mérito, é dispensado o incomparável dom da inteligência, os segundos estão em seu caminho para disso se beneficiar, tanto quanto os Anjos, igualmente por mérito, têm a Pureza e a Luz, que estão sempre repassando à Humanidade.”
(Kuhl E., 1995)

ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA – ÁREA DE REPRODUÇÃO DE BOVINOS

O presente relatório tem o objetivo de descrever as principais atividades acompanhadas e desenvolvidas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, realizado no período de 03 de agosto a 23 de novembro de 2015. As atividades foram concentradas na área de Reprodução de Bovinos, divididas em duas etapas, sendo a primeira etapa desenvolvida em bovinos de leite e posteriormente com bovinos de corte. Durante a primeira fase do estágio, que perdurou de 03 de agosto a 18 de setembro de 2015 (280h), foi possível acompanhar as atividades desenvolvidas pelo Núcleo de Pesquisa, Ensino, Extensão em Pecuária (NUPEEC) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), que desenvolve atividades integrando as áreas de Nutrição, Sanidade e Reprodução Animal, sob a supervisão do Médico Veterinário Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa. Neste período foi possível vivenciar atividades de manejo reprodutivo e clínico em uma propriedade leiteira parceira do grupo, além de acompanhar e auxiliar em projetos de pesquisa desenvolvidos pelos alunos da pós-graduação, e participar de aulas teóricas e práticas de Clínica Médica de Grandes Animais. A segunda etapa do estágio curricular seguiu de 28 de setembro a 23 de novembro de 2015 (304h), onde foi acompanhado o trabalho exercido pela equipe da empresa Geraembryo Assessoria e Consultoria pecuária LTDA, na cidade de Cornélio Procópio, norte do estado do Paraná. No decorrer desta etapa, acompanhou-se a rotina da empresa, que presta assessoria em manejo reprodutivo, concentrando suas atividades no desenvolvimento das biotecnologias da reprodução, manejo sanitário, produtividade e aprimoramento genético aplicado à bovinocultura de corte, estando sob a supervisão do Médico Veterinário Rubens Cesar Pinto da Silva. O Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária totalizou a carga horária de 584 horas (quinhentos e oitenta e quatro horas) sob orientação do Médico Veterinário Prof. Dr. Fabio Gallas Leivas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: A -Vacas em ordenha, antes do atendimento; B- Praça de alimentação, após o atendimento (Arquivo pessoal).	16
FIGURA 2: A- Limpeza da vulva; B- Inserção do Metrichek; C- Observação do conteúdo vaginal (Arquivo pessoal).....	18
FIGURA 3: Graus de endometrite de 0, 1, 2, 3a e 3 b (Adaptado de Willian <i>et al</i> 2005/Haan 2012).	18
FIGURA 4: Protocolo IATF utilizado em vacas leiteiras durante o ECSMV. (Adaptado de Pereira <i>et al</i> (2015).	19
FIGURA 5: Atividades ligadas a área da pesquisa junto ao NUPEEC durante o ECSMV, A- Coleta de sangue; B- Pesagem dos ovinos (Arquivo pessoal).....	21
FIGURA 6: Protocolo IATF utilizado em vacas e novilhas zebuínas durante o ECSMV (Arquivo pessoal).....	23
FIGURA 7: Protocolo dos programas de SOV e TE <i>in vivo</i> (Arquivo Pessoal).	25
FIGURA 8: A-Material para coleta de embriões <i>in vivo</i> ; B- Coleta de embriões <i>in vivo</i> , método não cirúrgico; C- Laboratório para busca e seleção dos embriões (Arquivo pessoal).....	26
FIGURA 9: Classificação dos embriões bovinos produzidos <i>in vivo</i> de acordo com o estágio de desenvolvimento (Fonte: IETS, 1998).....	27
FIGURA 10: Classificação de embriões bovinos produzidos <i>in vivo</i> de acordo com a qualidade morfológica (Fonte: IETS, 1998).....	28
FIGURA 11: Protocolo de sincronização de receptoras de embriões (Arquivo Pessoal).....	29
FIGURA 12: Criopreservação dos embriões. A- Envase dos embriões, B- Congelador compacto TK1000 (Fonte: Arquivo pessoal).	30
FIGURA 13: Variação individual por touro utilizado em programas de IATF, durante o ECSMV (Fonte: Geraembryo)	43
FIGURA 14: Total de novilhas, Fazenda Santa Maria (Paraná) durante a estação reprodutiva 2015/2016, taxa de prenhez antes da estação, taxa de novilhas descartadas, taxa de novilhas púberes e pré- púberes (Gentileza Fazenda Santa Maria).	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Atividades acompanhadas/desenvolvidas, junto ao NUPEEC, durante ECSMV, de 03 de agosto a 18 de setembro de 2015	15
TABELA 2: Atividades acompanhadas/desenvolvidas, junto a Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária, durante Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, de 28 de setembro a 23 de novembro de 2015.	22
TABELA 3: Taxa de prenhez, conforme escore de condição corporal e lotes por categoria animal, referentes a Fazenda Cachoeira, dados 2014/2015 (Fonte: Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária).	49
TABELA 4: Resultados de IATF e ressincronização, Faz. Marimbondo, estação de monta 2014/2015 (Fonte: Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária).....	55

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2-ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	15
2.1- Fase 1: NUPEEC	15
2.1.2 Atendimento Reprodutivo em vacas leiteiras	16
2.1.3- Diagnóstico de gestação e exame ginecológico	17
2.1.4- Diagnóstico de endometrite e metrite.....	17
2.1.5- Inseminação Artificial em Tempo Fixo	19
2.1.6- atendimentos clínicos em vacas leiteiras.....	19
2.1.7- Acompanhamento de pesquisas em ruminantes:.....	20
2.2 Fase 2: GERAEMBRYO212.2.1 Programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em <i>Bos indicus</i>	22
2.2.2 Produção de embriões.....	23
2.2.3 Superovulação das doadoras de embrião.....	24
2.2.4 Colheita de embriões	25
2.2.5 Sincronização da ovulação de receptoras de embrião	28
2.2.6 Inovulação dos embriões	29
2.2.7 Criopreservação de embriões	30
2.2.8 Análises realizadas em laboratório	30
2.2.8.1 Avaliação de sêmen criopreservado	30
2.2.9 Diagnóstico de Brucelose (AAT)	31
3-DISCUSSÃO.....	32
3.1 Fisiologia da fêmea bovina.....	32
3.2 Manejo Reprodutivo de vacas de Leite	34
3.2.1 Patologias associadas a perdas na reprodução.....	36
3.2.1.1 Endometrites e Metrites:.....	37
3.2.1.2 Tratamentos para endometrites.....	38
3.3 Manejo reprodutivo de vacas de corte - Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)..	40

3.3.1 Efeito do touro	41
3.3.2 Precocidade sexual e eficiência reprodutiva.....	44
3.3.3 Período pós parto	47
3.3.4 Manejo hormonal.....	49
3.3.4.2 Ésteres de estradiol	51
3.3.4.3 Prostaglandinas	52
3.3.4.3 Gonadotrofina Coriônica Equina.....	52
3.3.5 Diagnóstico de gestação precoce e ressincronização	53
4 CONCLUSÃO.....	56
Referências Bibliográficas.....	57
ANEXOS A- Certificado de Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária NUPEEC.....	65
ANEXO B - Certificado de Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária.....	66

1- INTRODUÇÃO

Em 2014 o rebanho bovino no Brasil chegou a 212,3 milhões de cabeças, um acréscimo de 569 mil animais em relação a 2013 (0,3%). Com isso, o Brasil manteve-se na segunda colocação no ranking mundial, sendo superado apenas pela Índia. Com base nestes dados o Brasil é hoje o segundo maior produtor de carne bovina, sendo superado apenas pelos Estados Unidos. (IBGE, 2015). Dentre as grandes regiões, 33,55% da produção nacional são derivadas da região Centro-Oeste. Quanto ao rebanho leiteiro especificamente, 10,9% do efetivo total dos bovinos brasileiros é composto por vacas ordenhadas. Por outro lado a produção leiteira em 2014 registrou cerca de 35,2 bilhões de litros, um aumento de 2,7% sobre o ano anterior, colocando o Brasil na 5ª posição no ranking mundial. Deste total de produção, 69,3% são provindos das regiões sul (34,7%) e sudeste (34,6%). A produção leiteira do Rio Grande do Sul nos últimos anos (2004/2014) cresceu quase o dobro da média brasileira (103,39 vs 56,72%), tornando-se assim o segundo maior produtor do país, atrás apenas de Minas Gerais (9,54 bilhões de litros).

Em vista da crescente demanda de produção brasileira, e pela afinidade com a área da reprodução, escolheu-se realizar o ECSMV em duas fases. Com o propósito de abordar os desafios do emprego das biotecnologias no cenário da pecuária leiteira, escolheu-se para o desenvolvimento da primeira fase do estágio curricular supervisionado o Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), que pertence a Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O grupo iniciou suas atividades no ano de 2002 e durante o período do estágio contava com um efetivo de 64 membros entre professores, pós-graduandos, graduandos e colaboradores. A atuação do grupo concentra-se nas áreas de Nutrição, Sanidade e Reprodução Animal, em espécies ruminantes, especialmente sobre as raças de bovinos leiteiros, visando o aprimorando prático e científico dos alunos agregados. Grande parte das atividades foram realizadas na Granja 4 Irmãos S/A Agropecuária, Indústria e Comércio, localizada no Município de Rio Grande à 60 km de Pelotas distrito do Taim-RS. A propriedade deu início à atividade leiteira em julho de 2005, sendo que a propriedade chegou ao ápice de produção com 1000 vacas em ordenha. Atualmente trabalha com uma média de 600 vacas da raça holandesa em lactação, com produção média de 18 litros de leite por vaca, ocupando a 37ª posição no Levantamento Top100/2015 (MILKPOINT, 2015)

No intuito de vivenciar um cenário competitivo e de aplicabilidade das biotecnologias da reprodução direcionadas a bovinocultura de corte, escolheu-se a empresa Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária Ltda para a segunda etapa do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária. A empresa tem sua sede localizada na cidade Cornélio Procópio norte do estado do Paraná e iniciou as atividades com transferência de embriões no ano de 1987, sendo a primeira Central de Transferência de Embriões do Paraná, num convênio entre Secretaria do Estado da Agricultura e Abastecimento (SEAB) e a Coprocafé (C. Procópio/PR). A empresa Geraembryo foi fundada em 1999 dedicada à Reprodução Bovina, voltada inicialmente à biotecnologia de embriões, e em 2005 passou a prestar serviços de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. A equipe é composta pelos médicos veterinários Rubens César Pinto da Silva, Mario Ribeiro Jr. e Márcio de Oliveira Marques e mantém parcerias com os professores Dr. Pietro Sampaio Baruselli (FMVZ-USP /São Paulo), Dr. Gabriel A. Bó, (Instituto de Reproducción Animal Córdoba /Argentina) e Dr. Marcelo Marcondes Seneda (UEL /Londrina – PR), realizando cursos, simpósios e experimentos científicos, visando o desenvolvimento da pecuária nacional. Durante o período acompanhado foi possível conhecer diversas realidades da pecuária de corte, abrangendo as regiões Sul (Paraná) e Centro Oeste (Mato Grosso do Sul) do Brasil. As atividades desenvolvidas incluíram a realização de planejamentos reprodutivos, eventos pecuários, avaliação e seleção de reprodutores, matrizes, avaliação de novilhas pré-púberes, diagnóstico de gestação, manejo de protocolos de superovulação (IATF, SOV), transferência de embriões em tempo fixo, criopreservação de embriões, análise de amostras de sêmen congelado, diagnóstico de brucelose, e confecção de planilhas e laudos.

2-ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1- Fase 1: NUPEEC

As atividades relatadas a seguir (Tabela 1) ocorreram durante a primeira fase do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV), junto ao NUPEEC. Esta fase do estágio teve início no dia 03 de agosto e término 18 de setembro de 2015, totalizando 280 horas (duzentos e oitenta horas). A maior concentração das atividades envolveu o acompanhamento de experimentos de pós-graduação e manejo das vacas leiteiras, contudo, também foi possível acompanhar neste período atividades que englobaram a área de clínica em ruminantes. Contando, com a orientação do Médico Veterinário Prof. Dr. Fabio Gallas Leivas e a supervisão do Médico Veterinário Prof. Dr. Márcio Nunes Corrêa.

TABELA1- Atividades acompanhadas/desenvolvidas, junto ao NUPEEC, durante ECSMV, de 03 de agosto a 18 de setembro de 2015

ATIVIDADES ACOMPANHADAS E DESENVOLVIDAS	Nº ATIVIDADES	%
Atendimento Reprodução em vacas leiteiras	322	90,97
Atendimentos Clínicos em vacas leiteiras	30	8,47
Experimentos da pós-graduação	2	0,56
Total	354	100,00

2.1.1 Práticas de reprodução e clínica em vacas leiteiras:

As atividades ligadas à reprodução e clínica com vacas leiteiras ocorreram no setor de pecuária leiteira da Granja 4 Irmãos S/A Agropecuária, Indústria e Comércio (FIGURA 1 - A e B). Os animais eram segregados em 4 lotes, conforme escala de produção, sendo ordenhado primeiro o lote de maior produção, seguido dos lotes de menor produção e por fim eram ordenhadas as vacas em pós-parto recente e as estavam sob tratamento medicamentoso. A

ordenha ocorria duas vezes ao dia, com início às 6h e às 17h. E os animais eram mantidos em sistema semiextensivo, recebendo silagem de sorgo após ordenha e mantidos em pastagem consorciada de azevém, trevo branco e cornichão (*Loliumperene*, *Trifoliumrepens* e *Lotus corniculatus L*).

Ao chegar ao local de ordenha à rotina seguia conforme manejo dos lotes em lactação. Sendo os animais monitorados por um sistema integrado e computadorizado, o qual permitia a identificação individual dos animais. As vacas destinadas ao atendimento eram listadas pelo funcionário responsável da ordenha ou pelos veterinários responsáveis pelo atendimento, segundo histórico individual. Os dados coletados na ordenha eram lançados em um programa de computador que gerava tabelas contendo as informações previamente filtradas a partir do histórico individual de cada vaca. Ao terminar a ordenha, a caminho da praça de alimentação, segregavam-se os animais destinados ao atendimento de forma automática por um portão eletrônico.



FIGURA 1 - A -Vacas em ordenha, antes do atendimento; B- Praça de alimentação, após o atendimento (Arquivo pessoal).

2.1.2 Atendimento Reprodutivo em vacas leiteiras

Os animais foram individualmente atendidos, sendo primeiramente verificado o histórico reprodutivo de cada indivíduo e logo depois realizados os procedimentos necessários, como a avaliação de escore de condição corporal e exame ginecológico. A avaliação do útero, dos ovários ocorria através da palpação transretal, seguida de

ultrassonografia. Posteriormente avaliava-se a presença de catarro genital pelo sistema Metricheck para diagnóstico de endometrites e metrites.

As vacas consideradas sadias eram submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Os animais diagnosticados com retenção de placenta ou outras patologias eram encaminhados para uma posterior avaliação a cargo do grupo da clínica que atuava no decorrer da semana. Os manejos de IATF ficavam a cargo de um funcionário treinado e com experiência na técnica, o qual dava seguimento aos protocolos instituídos pela equipe.

2.1.3- Diagnóstico de gestação e exame ginecológico

Os diagnósticos de gestação ocorriam em período precoce entre 30 a 45 dias após a inseminação, a fim de identificar as fêmeas não gestantes e realizar o exame ginecológico. Fêmeas em período de gestação superior a 90 dias também eram examinadas, visando identificar e remover do sistema de ordenha vacas no terço final de gestação.

Os exames de diagnóstico de gestação foram realizados pelo médico veterinário responsável pela equipe e a dinâmica deste procedimento ocorria via palpação transretal e ultrassonografia. Durante a avaliação se observava tônus uterino, tamanho e presença de conteúdo uterino, assimetria dos cornos uterinos, presença de embrião, qualidade dos ovários quanto a tamanho, presença de estruturas como dos folículos (FL), corpo lúteo (CL) e cistos ovarianos (CO).

2.1.4- Diagnóstico de endometrite e metrite

O diagnóstico de saúde uterina ocorria a partir da avaliação do catarro genital (CG), através do sistema Metrichek de avaliação, identificando-se a presença de endometrite ou metrite. Para a realização desta avaliação primeiramente realizava-se a limpeza e higienização com papel toalha da região perineal e da mucosa da vulva, evitando assim o carreamento de contaminantes durante procedimento. Após a limpeza, era realizada a abertura dos lábios

vulvares e introdução cuidadosa do Metrichek via intravaginal até o colo uterino para coleta do muco vaginal. O Metrichek era então removido e o muco avaliado e classificado de 0 a 3 de acordo com a qualidade do conteúdo presente (FIGURA 2- A, B, e C). O grau 0 indicava muco translúcido, o grau 1 muco contendo algumas estrias brancas ou pús; grau 2 o muco com conteúdo purulento inferior a 50% e, grau 3 muco com mais de 50% de conteúdo purulento ou sanguinolento determinando a presença de endometrite ou metrite (FUGURA 3). O tratamento das afecções diagnosticadas variava conforme a severidade do quadro, sendo que os tratamentos instituídos consistiam em terapia hormonal com 12,5mg ou 25mg de Dinoprost trometamina (Lutalyze ® Zoetis). Em alguns casos, quando o conteúdo apresentava grau 3, realizava-se a associação a antibióticoterapia, com Cefapirina 500g, intrauterina (Metricure® MSD).



FIGURA 2- A- Limpeza da vulva; B- Inserção do Metrichek; C- Observação do conteúdo vaginal (Arquivo pessoal).

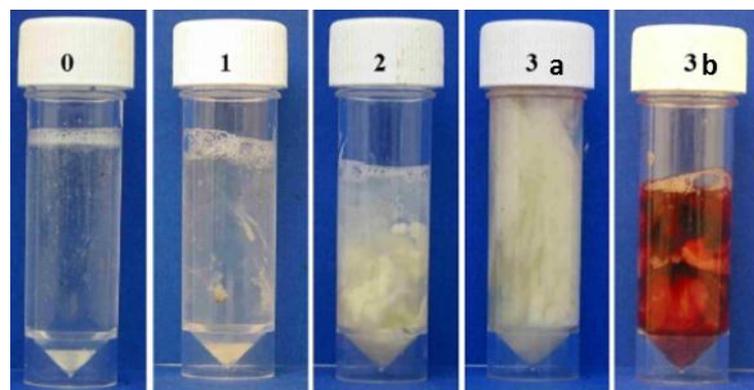


FIGURA 3- Graus de endometrite de 0, 1, 2, 3a e 3 b (Adaptado de Willian *et al* 2005/Haan 2012).

2.1.5- Inseminação Artificial em Tempo Fixo

As vacas diagnosticadas não gestantes, classificadas em grau 0 ou 1 no sistema Metrichek e que apresentassem escore de condição corporal maior ou igual a 2, logo eram submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O protocolo hormonal instituído para manejo de sincronização da ovulação das vacas leiteiras baseava-se na associação do análogo de GnRH, 1mg de Acetato de Gonadorelina (Gonadiol®, Zoetis) no início do protocolo com o implante de progesterona de liberação lenta de 1,9mg ou 1g (CIDR® Zoetis ou DIB ® Zoetis), mais a administração de 2mg Benzoato de Estradiol (BE, Gonadiol ®, Zoetis), sendo este o dia 0 (D0) do protocolo. No dia 7 (D7) aplicava-se 25mg de Dinoprost Trometamina (Lutalyse® Zoetis) e no dia 9 (D9) era removido o implante de progesterona e aplicado novamente 25 mg de Dinoprost Trometamina (Lutalyse® Zoetis) associado a 1mg de Cipionato de Estradiol (E.C.P. ® Zoetis), sendo a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) realizada após 48 horas (FIGURA 4; PEREIRA *et al.*, 2015).

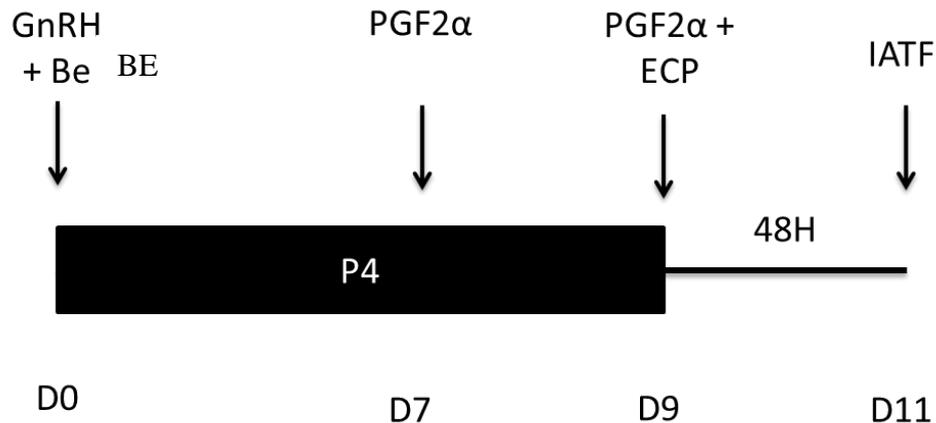


FIGURA 4 - Protocolo IATF utilizado em vacas leiteiras durante o ECSMV. (Adaptado de Pereira *et al* (2015).

2.1.6- Atendimentos clínicos em vacas leiteiras

Para os atendimentos clínicos, assim como o atendimento reprodutivo, os animais eram selecionados, conforme detecção da funcionária responsável pela ordenha, ou pelos

veterinários do grupo. Primeiramente realizava-se o exame físico completo com a identificação, inspeção do paciente, ausculta da frequência cardíaca, frequência respiratória, movimentos ruminais, tempo de perfusão capilar, coloração de mucosa e temperatura. Em seguida, examinava-se cada paciente conforme os sinais clínicos específicos diagnosticados e instituía-se o tratamento mais adequado. Dentre os casos atendidos, observou-se a maior ocorrência de afecções envolvendo sistema locomotor, respiratório e reprodutivo. Dentre as lesões avaliadas, as mais comuns foram o amolecimento de sola, dermatite interdigital, erosão de talões, úlceras de casco e hematoma de sola. Os tratamentos de casco consistiam em casqueamento corretivo e pedilúvio com sulfato de cobre e os demais tratamentos eram definidos conforme a necessidade. Quanto aos distúrbios reprodutivos, realizava-se o exame ginecológico com palpação transretal e vaginoscopia com espéculo tubular para reavaliação de endometrites. Não realizava-se o exame ginecológico completo das vacas. Os tratamentos indicados consistiam em antibioticoterapia com Sulfato de Cefquinona 1mg/25kg (Cobactan® 2,5% injetável, Intervet.) e antiinflamatório, Flunixin Meglumina 2mg / 45kg (Flumedin® injetável, Jofadel) sempre que se julgasse necessário.

2.1.7- Acompanhamento de pesquisas em ruminantes:

Durante as rotinas dos experimentos, puderam-se acompanhar atividades que envolveram o manejo de grandes e pequenos ruminantes.

Os estudos em andamento visavam monitorar resposta ovariana em vacas leiteiras multíparas frente à administração de insulina, e testar a incorporação de coprodutos de uva na dieta de ovinos.

Durante as atividades realizaram-se coletas e processamento de amostras de sangue e soro, avaliação da microbiota rúmen de ovinos, pesagem e avaliações de escore de condição corporal de pequenos ruminantes e avaliação de dinâmica folicular em grandes ruminantes. (FIGURA 5- A e B)



FIGURA 5 - Atividades ligadas a área da pesquisa junto ao NUPEEC durante o ECSMV, A- Coleta de sangue; B- Pesagem dos ovinos (Arquivo pessoal).

2.2 Fase 2: GERAEMBRYO

As atividades relatadas a seguir, foram realizadas durante a segunda fase do ECSMV (TABELA 2), junto a Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária. Esta fase do estágio teve início no dia 28 de setembro e término 23 de novembro de 2015, totalizando 304 horas (trezentos e quatro horas). A maior concentração das atividades envolveram a implementação de programas de inseminação artificial, em rebanho comercial de bovinos de corte. Contudo, também foi possível acompanhar neste período atividades com Coleta e Transferência de Embriões, análise de sêmen e exames de Brucelose. As atividades ocorreram com a supervisão do Médico Veterinário Rubens Cesar Pinto da Silva e orientação do Médico Veterinário Prof. Dr. Fábio Gallas Leivas.

TABELA 2 - Atividades acompanhadas/desenvolvidas, junto a Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária, durante Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, de 28 de setembro a 23 de novembro de 2015.

ATIVIDADES ACOMPANHADAS E DESENVOLVIDAS	Nº	%
Avaliação de ciclicidade	1137	18,1
D0 – Implante (IATF)	988	15,8
D8- Retirada do implante (IATF)	1531	24,4
D10- Inseminação (IATF)	1595	25,4
Diagnóstico de Gestação Precoce	495	7,9
Diagnósticode Gestação	324	5,2
Coleta de Embriões	8	0,1
Transferência de Embriões	90	1,4
Avaliação de Sêmen Criopreservado	28	0,4
Diagnóstico Brucelose (TTA)	78	1,3
TOTAL	6274	100

2.2.1 Programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em *Bos indicus*

Para aumentar a produtividade do rebanho bovino de corte, é necessário investir em tecnologias que potencializam a criação. A IATF, quando manejada de forma apropriada, é um método eficiente para aperfeiçoar a genética e tornar o manejo rentável.

Para realização dos programas de IATF, foram selecionadas vacas a partir de 30 dias de parição, vacas não gestantes e novilhas com média de 24 meses de idade, previamente avaliadas quanto à presença de CL, indicando ciclicidade, e livres de brucelose. O protocolo hormonal de sincronização da ovulação utilizado consistia na aplicação de BE 2mg (Fertilcare sincronização®, Valeé; ou Gonadiol®, Zoetis; ou Rice-BE®, Tecnopec) no dia do início do tratamento (D0) e a inserção de um dispositivo intravaginal com diferentes concentrações de

progesterona (P4) 1,9, 1,2, 1, 0,7 ou 0,6g (CIDR®, Zoetis; Ferticare 1200®, Valeé; DIB®, MSD; Proclinar®, HertapCalier; ou Ferticare 600®, Valeé, respectivamente) conforme disponibilidade da propriedade. No caso específico de novilhas sempre se utilizou implantes com baixa concentração de progesterona ou implantes usados 8 ou 16 dias, ou ainda implante de P4 auricular, Norgestomet 3mg (Crestar®, MSD), que também poderia ser reutilizado. Este implante de progesterona era removido após 8 dias (D8), junto com a administração de agente luteolítico (prostaglandina) Cloprostenol Sódico, 0,250mg (Ciosin®, MSD); ou 0,24mg (Estron®, Tecnopec); ou Dinoprost Trometamina, 3,5mg (Lutalyse®, Zoetis) e indutores de crescimento folicular, Gonadotrofina Coriônica equina (eCG) 300 ou 400UI (Novormon®, Zoetis; ou Folligon®, MSD) e indutores da ovulação, Cipionato de Estradiol (CE) 0,5mg ou 0,6mg em novilhas e 1mg em vacas (ECP®, Zoetis). A inseminação em tempo fixo era realizada 48h após este manejo (FIGURA 10).

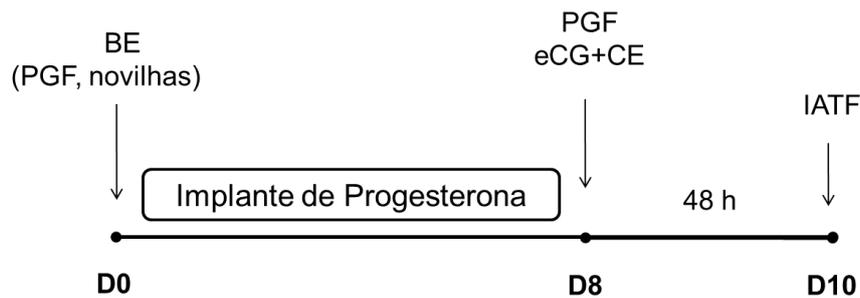


FIGURA 6- Protocolo IATF utilizado em vacas e novilhas zebuínas durante o ECSMV (Arquivo pessoal).

A continuidade do programa reprodutivo acontecia com a monta natural, ou com ressincronização (conforme manejo da propriedade) depois de devido diagnóstico de gestação precoce aos 30 dias de IA.

2.2.2 Produção de embriões

A Transferência de embriões (TE) consiste na técnica que permite multiplicar uma linhagem em um curto espaço de tempo, intensificando o desfrute de uma doadora selecionada por características produtivas. Para isso, as doadoras, são submetidas a protocolos de Superovulação (SOV), a fim de obter maior número de folículos e oócitos a serem

fecundados mediante IA, e posteriormente coletados e transferidos do útero de uma fêmea para outra. Outra biotecnologia utilizada para otimizar os benefícios da TE é a produção *in vitro* de embriões (PIV), onde os oócitos são aspirados a partir da técnica *OvumPick-Up* (OPU), e a manipulação dos oócitos, maturação, fecundação e cultivo de zigotos e estruturas embrionárias ocorrem em condições *in vitro*, respectivamente MIV, FIV e CIV. Acompanhou-se durante o estágio programas de SOV e a TE de embriões produzidos *in vitro*.

2.2.3 Superovulação das doadoras de embrião

Todas as doadoras utilizadas para produção de embriões *in vivo* foram avaliadas previamente por ultrassonografia com a finalidade de observar a ciclicidade, e condições uterinas, assim como realizava-se a avaliação do ECC. As vacas selecionadas eram então estimuladas a partir de protocolo SOV. Este protocolo iniciava-se com BE, (Gonadiol®, Zoetis ou Ferticare sincronização®, Valeé), a fim promover a atresia dos folículos em desenvolvimento e recrutar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular no 3º ou 4º dia após implantação. A partir do D3 realizava-se a aplicação do hormônio folículo estimulante (FSH), Foltropina de pituitária suína 133mg (Foltropin®-V, BIONICH). Foram aplicadas duas doses diárias, com intervalo de 12h (7h e 19h) por 4 dias em doses regressivas, sendo no D4, 4ml, D5, 3ml, D6, 2ml e D7, 1ml, totalizando 8 aplicações. No D6 fazia-se o uso de agente luteolítico, a base de cloprostenol sódico 0,500mg (Ciosin®, MSD). No D7 pela manhã (8h) era removido o implante de progesterona, no D8 aplicado 0,25mg de gonadorelina, (Fertagyl® MSD), sendo que as 19h do mesmo dia era realizada a primeira IA (2 doses de sêmen) e no D9 pela manhã (12h após) a segunda IA. No D16 era realizada a lavagem uterina para coleta dos embriões (FIGURA 11).

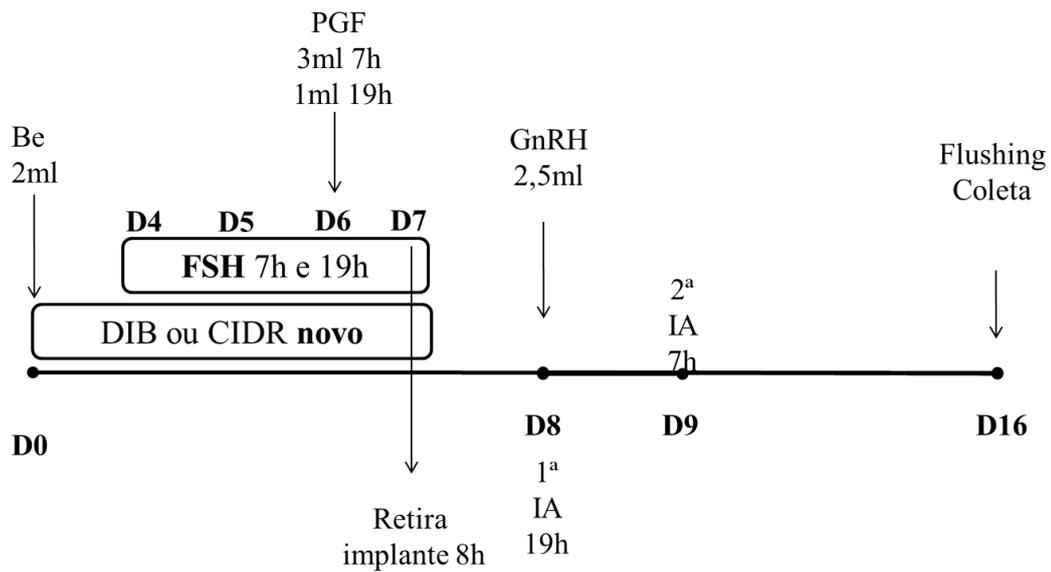


FIGURA 7- Protocolo dos programas de SOV e TE *in vivo* (Arquivo Pessoal).

2.2.4 Colheita de embriões

A coleta dos embriões era realizada sempre no 7º dia após a IA, onde se buscava obter embriões nos estágios de mórula, blastocisto inicial, ou blastocisto. A coleta dos embriões ocorria através do método não cirúrgico e sistema fechado. Depois de conter adequadamente a vaca no tronco, se realizava a ultrassonografia transretal para avaliação dos ovários e contagem dos CLs presentes. Fazia-se a higienização das regiões epidural e perineal, e realização do bloqueio anestésico epidural baixo, com 6mg de cloridrato de lidocaína 2% (Anestésico L®, Person). Logo então era inserido via transcervical o cateter de Foley com auxílio de um mandril de aço inoxidável, guiado via palpação transretal até a altura da bifurcação uterina. Neste momento se inflava o balão, com ar, fixando o cateter para remoção do mandril. Após então se conectava o cateter a um equipo em “Y” ficando a via superior acoplada a 1 litro de meio Tampão Fosfato (D-PBS®, Cultilab) aquecido a 37°C e a via inferior acoplado ao copo coletor com o filtro. Cada corno uterino era lavado separadamente e lentamente. Ao concluir a lavagem o balão era desinflado, o cateter removido, o copo coletor desconectado e encaminhado ao laboratório montado em um ambiente fechado próximo ao curral para busca dos embriões (FIGURA 8 - A, B e C).



FIGURA 8- A-Material para coleta de embriões *in vivo*; B- Coleta de embriões *in vivo*, método não cirúrgico; C- Laboratório para busca e seleção dos embriões (Arquivo pessoal).

No laboratório, lavava-se o copo coletor com meio PBS aquecido a fim de preparar uma placa de Petri para procura dos embriões. Os embriões eram selecionados sob estereomicroscópio Binocular. Cada embrião localizado era transferido para gotas de meio de manutenção de embriões a base de ácido hialurônico (SYNGRO Holding®, Bioniche). Os embriões eram avaliados conforme estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária, sendo selecionadas apenas estruturas viáveis segundo manual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões (IETS, Figura 9 e 10).

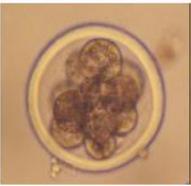
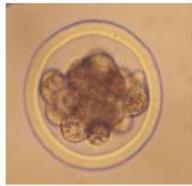
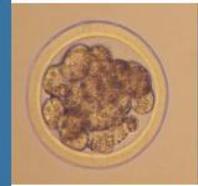
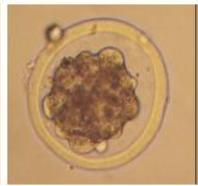
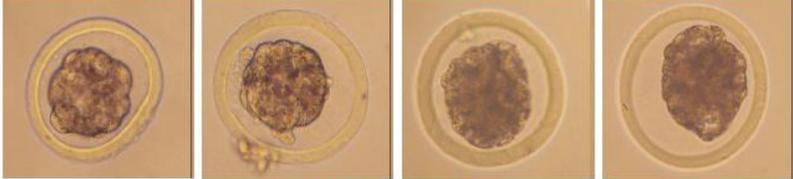
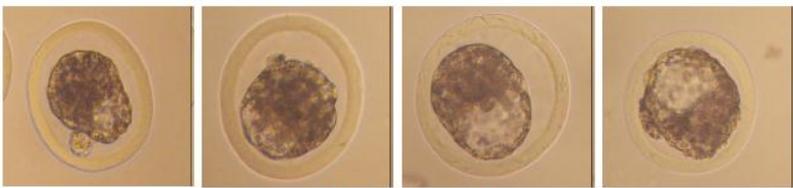
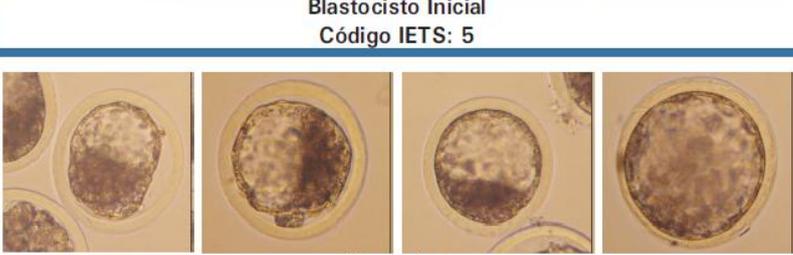
				<p>Mórula Fase esperada: dias 5,5-6,0 do ciclo Características: Blastômeros ainda evidentes, porém não é mais possível determinar número exato. Massa de células ocupa maior parte do espaço dentro da zona pelúcida. Período caracterizado pelo fim da fase de celularização e da transição materno zigótica e início do processo de compactação.</p>
<p>8 – 12 Células Código IETS: 2</p> <p>Mórula Código IETS: 3</p>				<p>Mórula Compacta Fase esperada: dias 6,0 a 6,5 do ciclo Características: Compactação torna a massa de células coesa, dificultando individualização dos blastômeros, e causa retração do embrião em relação à zona pelúcida, com aumento do espaço perivitelinico. Formação de junções de adesão e de oclusão entre as células, preparando o embrião para a formação da blastocèle.</p>
				<p>Blastocisto Inicial Fase esperada: dias 6,5 a 7,0 do ciclo Características: Blastômeros criam gradiente osmótico que atrai água para o espaço intercelular, iniciando a formação de uma cavidade denominada blastocèle. Perda da totipotência, com a formação de duas populações celulares distintas: o trofoblasto, que reveste a blastocèle, e a massa celular interna (MCI), lateral à blastocèle.</p>
<p>Mórula Compacta Código IETS: 4</p> <p>Blastocisto Inicial Código IETS: 5</p>				<p>Blastocisto Fase esperada: dias 7,0 a 7,5 do ciclo Características: Blastocèle aumenta de tamanho, tornando-se proporcionalmente maior que a massa celular interna e ocupando gradualmente todo o espaço perivitelinico. Trofoblasto sofre diferenciações morfológicas e funcionais associadas à captação de nutrientes, enquanto as células da MCI mantêm potencialidade.</p>
				<p>Blastocisto Expandido Fase esperada: dias 7,5 a 8,0 do ciclo Características: Expansão da blastocèle causa aumento de tamanho do embrião e progressiva redução na espessura da zona pelúcida (ZP). Maior desenvolvimento do trofoblasto, a MCI é visível dependendo da posição do embrião. Rompimento da ZP caracteriza a eclosão, com o embrião entrando em contato direto com os tecidos maternos.</p>
				<p>Blastocisto Eclodido Código IETS: 8</p>
				<p>Blastocisto Expandido Código IETS:</p>
<p>Blastocisto Expandido Código IETS:</p> <p>Blastocisto Eclodido Código IETS: 8</p>				

FIGURA 9– Classificação dos embriões bovinos produzidos *in vivo* de acordo com o estágio de desenvolvimento (Fonte: IETS, 1998)

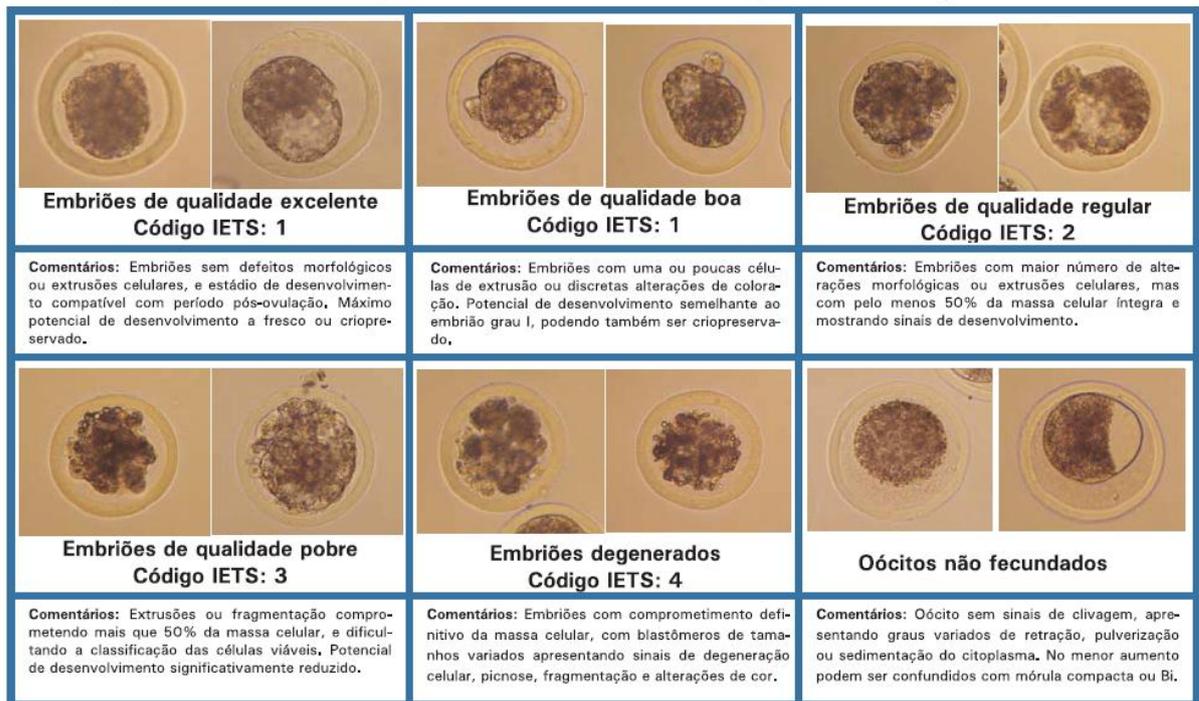


FIGURA 10- Classificação de embriões bovinos produzidos *in vivo* de acordo com a qualidade morfológica (Fonte: IETS, 1998)

Posterior à busca, os embriões eram lavados em 4 gotas de meio de manipulação e posteriormente envazados em palhetas de 0,25ml entre colunas de meio de manipulação intercaladas com ar de forma que no centro permanecesse o meio contendo embrião. Sempre que a quantidade de estruturas superava ao número de receptoras, se realizava a criopreservação.

2.2.5 Sincronização da ovulação de receptoras de embrião

Todas as receptoras foram selecionadas por ciclicidade a partir do diagnóstico por ultrassonografia e avaliação do escore de condição corporal (ECC 1 a 5; dando preferência para vacas multíparas, com mais de 2 gestações e ½ sangue europeu. O protocolo hormonal para sincronização das receptoras iniciou 2 dias antes do protocolo das doadoras, sendo assim no D0 foi inserido o implante intravaginal de progesterona (CIDR®, Zoetis) com aplicação de 2mg de BE (Gonadiol®, Zoetis), no D8 aplicou-se 400UI de eCG (Novormon®, Zoetis),

0,500mg Cloprostenol Sódico (Ciosin®, MSD), 1mg de CE (ECP®, Zoetis) e removeu-se o implante de P4, no D16 realizou-se a TE (FIGURA 14).

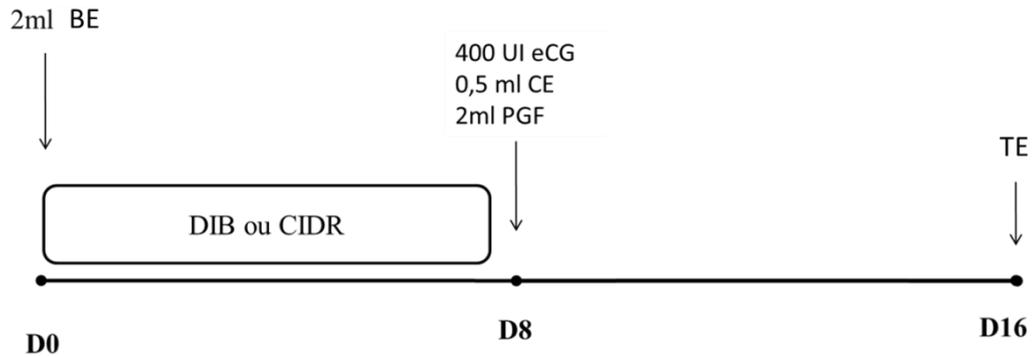


FIGURA 11 – Protocolo de sincronização de receptoras de embriões (Arquivo Pessoal).

2.2.6 Inovulação dos embriões

No D17, depois de devida contenção, as receptoras passavam por avaliação via ultrassonografia transretal a fim de avaliar o ovário qual respondeu ao tratamento de sincronização da ovulação e a presença e diâmetro do CL. Em seguida se realizava a antisepsia, bloqueio anestésico epidural e aplicação do sedativo, 1,5mg de acepromazina 1%, (Acepran®, Vetnil). A palheta contendo o embrião, recém coletado ou oriundo de FIV, era devidamente acoplada ao inovulador, revestido por uma bainha e camisa sanitária, e introduzido via transcervical, guiado por palpação transretal até alcançar o anel cervical, momento em que a camisa sanitária era removida. Transpassava-se a cervix e realizava-se a inovulação no corno uterino ipsilateral ao ovário contendo o CL, em terço médio superior do corno uterino.

2.2.7 Criopreservação de embriões

Os embriões selecionados foram criopreservados por método de congelação lenta em etilenoglicol. Onde foram expostos ao meio de criopreservação (Ethylene Glycol Freeze® Plus contendo 0,1 M de sacarose, 1,5 M de etilenoglicol e 0,4% de BSA) por 5 minutos. Durante este período realizou-se o envase dos embriões em palheta de 0,25ml, preservando o embrião imerso em meio de congelamento que se dispunha no centro da palheta intercalado entre colunas de ar e meio de criopreservação nas extremidades. As palhetas eram lacradas e após 5 min colocadas na câmara de armazenamento do congelador compacto TK1000 (Figura 16 A e B). A curva de congelamento foi programada no modo automático inicialmente a -6°C, onde permanecia cerca de 10 a 15 minutos, até a pausa para o *seeding* atingindo temperatura de -32°C, seguida pela colocação direta em nitrogênio líquido.



FIGURA 12- Criopreservação dos embriões. A- Envase dos embriões, B- Congelador compacto TK1000 (Fonte: Arquivo pessoal).

2.2.8 Análises realizadas em laboratório

2.2.8.1 Avaliação de sêmen criopreservado

Todas as partidas de sêmen utilizadas, para protocolos de inseminação artificial e produção de embriões eram avaliados previamente quanto à motilidade, vigor, concentração e

morfologia. As partidas de sêmen avaliadas foram descongeladas em descongelador automático WTA a 37°C por 30 segundos. Em seguida as amostras foram armazenadas em micro tubos e avaliadas sobre lâmina e lamínula, previamente aquecidas a 37°C, em microscopia óptica em aumento de 100 a 400x para determinação da motilidade e vigor. Foram considerados aptos as amostras com motilidade superior a 40% e vigor maior que 3. Em seguida uma alíquota de sêmen era diluído em água, a uma concentração de 1:20 para contagem de células espermática em câmara de Neubauer sobre microscopia óptica em aumento de 400x. Também era avaliada a morfologia espermática sobre esfregaço de lâmina corada ou amostra úmida, contando 200 células. Sendo aprovadas as amostras que apresentassem valor inferior a 30% de defeitos, sendo permitido até 20% de defeitos menores (até 10% do mesmo defeito menor) e 10% de defeitos maiores (até 5% do mesmo defeito maior).

2.2.8.2 Diagnóstico de Brucelose (AAT)

As amostras de soro encaminhadas ao laboratório eram avaliadas sobre triagem em reação a *Brucella abortus* amostra 1119/3, corado com rosa de Bengala, na concentração de 8,0% de volume celular, pH 3,63. A técnica era realizada conforme recomendado pelo Manual Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (BRASIL, 2006). Colocava-se a amostra de 0,03 ml do soro em contato com 0,03 ml do antígeno, sob uma placa de vidro quadriculada, logo as amostras eram homogeneizadas e a placa de vidro era mantida em movimentos rotatórios lentos e constantes por 4 minutos. Em seguida realizava-se a leitura das amostras observando, com ou auxílio de uma caixa com luz (aglutinoscópio). Sendo a formação de grumos de aglutinação, indicativo para amostra positiva e a não aglutinação para resposta negativa ao teste.

3-DISCUSSÃO

O incremento das atividades no setor pecuário é dependente do bom funcionamento de todas as etapas de produção. O maior desafio encontrado na pecuária contemporânea está vinculado à baixa eficiência reprodutiva dos rebanhos. Dentre as alternativas pautadas para minimizar as perdas no setor, estão o emprego das Biotecnologias da reprodução, aliadas ao bom manejo nutricional e sanitário preventivo.

Várias são as razões que explicam os gargalos da produção pecuária bovina de leite e de corte. Podemos ressaltar dentre os pontos críticos, a criação extensiva com forrageiras de baixa qualidade nutricional, submetendo os animais à deficiência de proteína, energia e minerais. A falha na fiscalização e manutenção do manejo sanitário, levando a ocorrência de doenças como brucelose e leptospirose que ainda são de difícil controle e traz prejuízos em todo território nacional. E ainda, a falta de investimento nas áreas de produção pecuária, em relação à agricultura, que exige intensificação cada vez mais rigorosa da produção.

No transcorrer das últimas décadas, com o advento e domínio das biotecnologias da reprodução, à produção pecuária passou a contar com importantes ferramentas que viabilizam aperfeiçoar a produção. As tecnologias desenvolvidas e aplicadas a campo como a inseminação artificial, manipulação do ciclo estral, ultrassonografia, transferência de embriões, criopreservação de gametas, sêmen sexado, fertilização *in vitro*, clonagem e genômica proporcionam artifícios para manipulação do melhoramento dos rebanhos, auxiliando ao melhor aproveitamento de pastagens, minimizando a disseminação de enfermidades e intensificando a produção e seleção genética.

3.1 Fisiologia da fêmea bovina

A puberdade é definida pela capacidade que o animal adquire em reproduzir. Geralmente, novilhas iniciam a puberdade sob a influência do peso, entre 6 a 12 meses de idade, pesando em média 250 kg. Neste período, umas séries de eventos fisiológicos e complexos começam a ocorrer de forma dinâmica, dando início à ativação de um padrão cíclico da atividade ovariana (FORDE *et al.*, 2011). A manifestação do comportamento sexual

das fêmeas depende do balanço endócrino apropriado, resultante do desenvolvimento dos folículos ovarianos (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Para que isto ocorra o eixo hipotalâmico deve secretar GnRH em frequência e quantidade suficiente, estimulando a liberação de gonadotrofinas e promovendo a gametogênese.

Estímulos autócrinos e parácrinos estão envolvidos na sensibilização do eixo porta-hipotalâmico-hipofisário (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Desta forma, a sensibilização do hipotálamo, ativa pulsos de hormônios liberados de gonadotrofinas (GnRH). Realizando a comunicação com a hipófise por um sistema de retroalimentação de alça curta. A hipófise armazena Hormônios Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizantes (LH), que atuam sobre os ovários. Estes também possuem função glandular e secretam inibina, ativina, progesterona e estrógeno que realizam comunicação com o eixo porta-hipotalâmico-hipofisário e com o útero, que se comunica secretando prostaglandinas (BINELLI, PORTELA E MURPHY 2009). A funcionalidade do eixo reprodutivo depende da ativação do mecanismo endócrino, das concentrações circulantes de gonadotrofinas, esteróides e capacidade de resposta hipotalâmica. Estas atividades iniciam no período embrionário, quando neurônios hipotalâmicos começam a surgir, por volta de 32º dia de gestação; coincidindo com a diferenciação sexual (por volta de 1,5 meses). Neste período, entorno de 10ª semana, as gonadotrofinas começam a ser secretadas e regride temporariamente até os 2 meses que antecedem o nascimento, mantendo em níveis baixos até a puberdade (BRAGANÇA, 2007; HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Cada ciclo estral bovino é estabelecido entre o início de um estro ao outro, com intervalo médio de 21 dias (18 a 24 dias). O ciclo é caracterizado pelo crescimento folicular e posterior atresia, seguida de ovulação na última onda de crescimento. Este ciclo pode ser dividido em duas fases, a fase lútea (14 a 18 dias) e a fase folicular (4 a 6 dias). A primeira fase do ciclo tem início logo após a ovulação, caracterizada pela luteinização das células da granulosa. Esta fase cursa com a predominância de um corpo lúteo (CL). Neste período ocorre a emergência de ondas de crescimento folicular, que não atingem a ovulação e entram em atresia (metaestro e diestro). A segunda fase sucede a luteólise, com o desaparecimento do CL. Nesta fase ocorre a maturação do folículo dominante, manifestação do estro seguida da ovulação (proestro e estro; SARTORI e BARROS, 2011; FORDE *et al.*, 2011). Para cada ciclo estral, ocorre a emergência de duas (vacas leiteiras) ou três (novilhas / vacas de corte) ondas de crescimento folicular sendo que apenas um folículo atinge a dominância (FORDE *et al.*, 2011).

Portanto o estro é a fase em que as concentrações de estrógeno estão elevadas, estimulando o aumento da frequência dos pulsos de LH causando mudanças comportamentais associadas ao estro e conseguinte ovulação. Desta forma se dá início ao metaestro, com a luteinização das células da granulosa, ocorrendo à formação de um CL que passa a secretar P4. Quanto mais altas forem taxas de P4, maior a influência sobre a dinâmica folicular (ou gestação inicial). Durante este período ocorre o crescimento dos folículos em ondas, sendo que as células da granulosa dos folículos em crescimento passam a secretar estradiol e inibina, desta forma ocorre um estímulo retrogrado para FSH, promovendo atresia dos folículos subordinados (FSH dependentes), crescimento e divergência do folículo dominante (estimulado por outros fatores). No diestro as concentrações de estradiol começam a aumentar e ao chegar ao proestro ativam receptores endometriais, que em resposta iniciam a secreção de PGF2 α . Este potente luteolítico atua no mecanismo de lise do CL e promove a redução das concentrações de P4. Desta forma permite que haja o aumento da frequência dos pulsos de LH, acelerando o crescimento final e maturação do folículo pré ovulatório (BINELLI, PORTELA E MURPHY 2009).

O conhecimento sobre a fisiologia permite desenvolver, incorporar e aprimorar novas tecnologias. Da mesma forma, o domínio sobre a resposta fisiológica é fundamental para exercer uma correta manipulação dos protocolos hormonais, e permite potencializar a capacidade produtiva dos rebanhos, mesmo mediante as variáveis, genóticas e fenóticas. O estudo da fisiologia reprodutiva, foi imprescindível durante todas as fases do estágio, auxiliando na compreensão das variáveis encontradas, entre categoria animal, ambiente, manejo e emprego dos protocolos utilizados e a conduta abordada para cada caso.

3.2 Manejo Reprodutivo de vacas de Leite

No estabelecimento do manejo reprodutivo ideal para vacas leiteiras, alguns aspectos devem ser observados. Primeiramente, a categoria animal deve ser selecionada, e a partir de então se devem diagnosticar as necessidades nutricionais de cada lote, verificar as condições sanitárias e aptidão reprodutiva das fêmeas.

Novilhas taurinas podem atingir aptidão reprodutiva a partir dos 12 meses de idade, desde que manejadas de forma ideal, pesando em média 300 kg. Diversas opções de manejo

reprodutivo, tais como acasalamento com touros, observação diária de cio associada a IA, ou IATF podem ser utilizadas (SARTORI, 2007). Dentre as técnicas desenvolvidas para instituir o acasalamento das fêmeas, protocolos hormonais seguidos de inseminação artificial são os mais utilizados atualmente com a finalidade de minimizar perdas de estro, reduzir incidência de transmissão de doenças e induzir a ciclicidade em fêmeas acíclicas. Desta forma mais novilhas podem tornar-se gestantes, em menor período de tempo e como consequência trazendo maior lucratividade ao produtor.

Todavia, os maiores desafios reprodutivos são diagnosticados no manejo de vacas durante a transição (21 dias antes do parto e 21 dias após o parto), no decorrer do periparto e manejo do acasalamento das primíparas. Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação as vacas leiteiras apresentam um período de balanço energético negativo (BEN). Neste período a energia dissipada para manutenção e produção de leite é maior do que a energia ingerida. Isto ocorre entre 4 a 6 semanas antes do pico de ingestão de matéria seca (IMS). Desta forma inicia uma exacerbada demanda nutricional, para a energia, glicose e aminoácidos, levando a uma drástica mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo, resultando em elevadas concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados (NEFA). Resultante desse processo, o estresse metabólico, pode elevar a incidência de cetose, hipocalcemia, fígado gorduroso, retenção de placenta, metrite, endometrite, mastite e outras doenças relacionadas (PIEPENBRINK *et al.*, 2004; SARTORI e MOLLO, 2007). A mobilização de tecido adiposo e perda de condição corporal alteram a duração do puerpério e do período anovulatório. Quando as vacas estão em BEN, as concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados aumentam. Em decorrência disto a insulina, IGF-1 e a glicose encontram-se basais, comprometendo a função ovariana e fertilidade. A deficiência de IGF-1 também está relacionada com resposta imune, atuando sobre os moduladores de apoptose e funcionalidade de leucócitos, que auxiliam na limpeza uterina (MORAES *et al.*, 2014).

Para amenizar o BEN, pode-se aumentar o conteúdo energético da dieta, adicionando gordura. Dentre os tipos de gordura utilizados encontram-se, óleos vegetais, ricos em ácidos graxos poli-insaturados, e gordura animal rica em gordura saturada. A gordura pode ser manufaturada, contendo pouco ou nenhum efeito na fermentação do rúmen, sendo assim denominada gordura protegida. No rúmen, incluem ácidos graxos hidrogenados e sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa (SARTORI e MOLLO, 2007). Porém esta suplementação deve ser balanceada, caso contrário, outros problemas poderão interferir em decorrência de sobrepeso, tais como hiperinsulinemia e resistência à insulina.

Os fatores genéticos são relevantes quando considerada a obtenção de qualidade da carne e produção de leite, bem como para a saúde em geral. Porém, a expressão destas características genotípicas pode ser modulada desde a vida intrauterina. Diversos fatores exógenos, como a demanda nutricional e parâmetros ambientais também podem interferir.

Para manter o rebanho com bons índices produtivos é necessário estabelecer um manejo ideal, considerando o período de transição, o BEN, e a saúde reprodutiva da vaca, como elementos que levam ao desequilíbrio metabólico. A desarmonia destes fatores estabelece a imunossupressão, neste caso, associada tanto a doenças uterinas, como das glândulas mamárias, baixa produção de leite, levando a perdas econômicas (MACHADO e BICALHO, 2015). Tratando-se de pecuária leiteira de alta produção, estes requisitos tornam-se um desafio constante.

3.2.1 Patologias associadas a perdas na reprodução

Doenças uterinas pós-parto especialmente a metrite, endometrite clínica, e endometrite subclínica são importantes, tanto por razões de proteção dos animais, contribuindo para desconforto, como por razões econômicas, afetando profundamente o desempenho reprodutivo e reduzindo o potencial de lucro das explorações leiteiras (BICALHO *et al.*, 2010). Durante a prenhez, o útero permanece estéril, mas durante e após o parto o lúmen uterino fica vulnerável a contaminações por bactérias ambientais. Esta contaminação, poderá levar a um quadro patológico, caso haja perda da integridade das barreiras físicas de defesa e falha da imunidade inata, permitindo a proliferação das bactérias patogênicas, e levando ao estabelecimento de um quadro clínico. O quadro inflamatório varia de sub clínico à clínico, sendo dependente da competência do animal em controlar ou extinguir os patógenos que levam ao estabelecimento da enfermidade. A endometrite subclínica afeta aproximadamente 15% dos animais, podendo ser desenvolvida em até 10 dias após o parto, e persistir além de 3 semanas em 20% das vacas, ou tornar-se endometrite clínica em 40% dos animais e ocasionalmente levar a um quadro de piometra (SHELDON *et al.*, 2009). O desenvolvimento da doença clínica é dependente do equilíbrio entre a tríade que relaciona a capacidade de resposta imune, hospedeiro e a patogenicidade das bactérias associadas (SHELDON *et al.*, 2009). De acordo com as observações feitas durante o estagio curricular, apenas 60,9%

(109/179) das vacas destinadas a IATF estavam em plenas condições de serem inseminadas entre 38 e 42 dias após o parto. As demais apresentavam enfermidades relacionadas ao pós-parto, sendo que do total de vacas examinadas 39,10% apresentaram endometrite clínica (70/179). Esta enfermidade é responsável diretamente pela queda do desempenho reprodutivo e atraso no estabelecimento de uma nova concepção, sendo identificadas vacas com intervalo de 48 e superior a 129 dias pós parto, apresentando diferentes graus de endometrite clínica.

3.2.1.1 Endometrites e Metrites:

A endometrite clínica, consiste no estado inflamação do endométrio, caracterizada pela presença de conteúdo mucopurulento no lúmen uterino. Pode ser detectável entre 21 a 26 dias após o parto, através da observação de uma descarga purulenta uterina, que pode estender-se por longos períodos de tempo (SHELDON *et al.*, 2006). Frequentemente a endometrite está associada a contaminações bacterianas ascendentes, ou a eventos traumáticos decorrentes do parto ou período de transição (BICALHO *et al.*, 2012). As falhas nas barreiras físicas e imunológicas levam a consequente persistência de bactérias patogênicas, resultando no estabelecimento de diferentes quadros de infecção uterina (SHELDON *et al.*, 2009). Além da imunidade inata, as barreiras físicas naturais (vulva, vagina e colo do útero) auxiliam a impedir a migração de microrganismos ascendentes via trato reprodutivo até o útero. Estes fatores de proteção quando violados, a exemplo do parto distócico e retenção de placenta, aumentam a vulnerabilidade uterina à contaminação por bactérias ambientais associados a doenças uterinas, a *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* e *Fusobactérium necrophorum*. (MACHADO e BICALHO, 2015) que se proliferam em um ambiente anaeróbico.

Estudos realizados por LeBlanc e colaboradores (2002) afirmam que uma elevada proporção das endometrites possuem resolução espontânea, por volta de 4 semanas pós-parto. O quadro inflamatório do endométrio pode ocorrer na forma subclínica, onde o diagnóstico só será possível a partir de coleta de amostras de células uterinas, podendo assim caracterizar a presença das células inflamatórias. No entanto, a aplicação desta técnica é pouco viável na rotina de campo. Nos casos agudos a metrite puerperal é observada e caracterizada por um aumento anormal do tamanho do útero e uma descarga uterina fétida, marrom-avermelhada, associado com sinais de doença sistêmica (diminuição da produção de leite, apatia, ou outros

sinais de toxemia) e febre superior a 39,5°C no prazo de 21 dias após o parto (SHELDON *et al.*, 2006).

O diagnóstico de endometrite mais usual é realizado a partir da observação do conteúdo uterino, via vaginoscopia com o espéculo vaginal, mão enluvada, ou como utilizada durante o estágio, com dispositivo vaginal Metrichek. Qualquer um dos métodos de escolha pode ser utilizado sem causar danos ao desempenho reprodutivo (PLETICHA, DRILLICH E HEUWISER, 2009). Decorrente desta pesquisa, avaliando vacas submetidas ao diagnóstico de endometrite, com espéculo vaginal e subsequente dispositivo Metrichek, apresentando resultados respectivos 43% vs 60% para sinais positivos de endometrite. Pode-se supor, que a variação dos resultados advem do aumento da estimulação uterina seguida de um exame posterior ao outro. Porém, neste estudo o método Metrichek mostrou ser eficiente. Durante o estágio, pode-se comprovar a funcionalidade e rapidez deste método ao diagnóstico, otimizando a mão de obra durante o manejo de vacas com intervalo de parto superior a 21 dias.

3.2.1.2 Tratamentos para endometrites

A incidência de doença uterina em vacas leiteiras aumentou exponencialmente nos últimos 50 anos, com relação direta ao aumento da produção leiteira (SHELDON *et al.*, 2015). Neste contexto, a eliminação das bactérias do trato uterino parece ser desafiadora.

Dentre os tratamentos para endometrite, os mais utilizados, são baseados em protocolos hormonais com a finalidade de estabelecer um ambiente suficientemente estrogênico, para a luteólise e indução de ciclicidade. Durante o estágio o tratamento utilizado foi baseado em agentes luteolítico, como o análogo de PGF2 α , com dosagem de 25mg e 12,5mg de dinoprost trometamina (Lutalyse® Zoetis), para tratamento de vacas, com e sem CL. Em alguns casos foi associado à administração de antibióticos intrauterinos, como a cefapirina 500mg (Metricure®, MSD). Análises realizadas por Le Blanc e colaboradores (2002) afirmam que a PGF2 α possui ação sob receptores endometriais, estimulam limpeza de útero e do colo uterino, reduzindo o número de bactérias por meio dos efeitos relacionadas com o estro. O efeito luteolítico promove alterações favoráveis sobre a diminuição das concentrações de progesterona em nível de fagócitos uterinos. Estes efeitos parecem ser

potencializados, em associação a cefapirina, além de estabelecer a retomada da ciclicidade. Apesar de a PGF2 α ser comumente utilizada devido ao seu potencial luteolítico, alguns estudos avaliam a sua ação sobre o tratamento de vacas não cíclicas. Seu potencial efeito também é investigado devido aos tratamentos a base de antibioticoterapia, apresentarem alguns inconvenientes, relacionados com o risco do efeito residual destes fármacos no leite.

Em vista disso, Fernandes e colaboradores, (2014) testaram e comprovaram o efeito benéfico do tratamento a base de Cloprostenol Sódico, em vacas sem CL, que apresentavam diferentes graus de endometrite pós parto, que denotaram melhora ou cura, conforme lesão endometrial, reduzindo o intervalo entre concepções. No entanto, o emprego do tratamento a base de PGF2 α e seus análogos em vacas sobre pós parto recente também é discutido. É possível que PGF2 α exógena, cause a lise prematura do tecido lúteo durante o período crítico (3 semanas após o parto), privando o hipotálamo, glândula pituitária e progesterona de restabelecer a sinalização normal endócrina e função ovariana. Assim, como os achados de Dubuc e colaboradores ,(2011) o tratamento com PGF2 α , em vacas não cíclicas, entre 35 e 49 dias após parto, não demonstrou efeito benéfico sobre a saúde uterina ou no desempenho reprodutivo subsequente. Desta forma, em vacas que apresentem anestro ou em pós-parto recente, seria válido avaliar a realização de um protocolo de indução a ovulação, estimulando a ciclicidade e efeito do estro, que irão aumentar a contratilidade uterina, auxiliando na higienização uterina.

Outro ponto a ser observado refere-se à dose administrada. Durante o estágio as doses do análogo de PGF2 α utilizados variavam entre a recomendação do fabricante e 50% da dose indicada. Estudos realizados por Haimerl, Heuwieser, e Arlt, (2013) analisaram diversos experimentos em que foram empregados tratamentos que utilizaram PGF2 α e seus análogos. Observou-se maior eficiência dos tratamentos que preconizaram a dosagem recomendada pelo fabricante. Também se constatou a eficiência da associação de antibioticoterapia, sendo que a cefapirina intrauterina, apresenta bons resultados sobre a taxa de prenhez, que aumentou em comparação as vacas não tratadas.

De acordo com os achados e com os tratamentos instituídos durante o estágio, pode-se perceber que a utilização de análogos de prostaglandina na dose recomendada, (25mg, dinoprost trometamina) é eficiente no tratamento de endometrites clínicas em vacas cíclicas. Sendo que o uso de terapia a base de antibiótico intrauterino pode ser questionável. As moléculas mais empregadas são oxitetraciclinas de longa ação (requer descarte do leite) e cefalosporinas (não requer descarte do leite), para animais de baixa ou alta produção, respectivamente (JÚNIOR, MARTINS, e BORGES, 2011). A utilização intrauterina

apresenta algumas desvantagens relacionadas com ocorrência de lesões endometriais ao utilizar drogas irritantes, ainda deve-se considerar a difusão inadequada do medicamento na parede uterina (JÚNIOR, MARTINS, e BORGES, 2011). Desta forma a utilização dos antibióticos sistêmicos parece ser mais adequada. A lavagem uterina é uma ferramenta indicada para o tratamento de endometrite, no entanto durante o estágio, o manejo da propriedade acabou por inviabilizar a utilização da técnica.

3.3 - Manejo reprodutivo de vacas de corte - Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Ao longo dos anos, estudos desenvolvidos consideram as particularidades da fisiologia reprodutiva em *Bos indicus* e *Bos taurus*. A curta duração e demonstração de cio noturno em fêmeas zebuínas são os principais fatores que limitam a generalização do uso da IA. Este problema pode ser ultrapassado com o uso de protocolos de IATF desenvolvidos ou adaptados para cada categoria animal (SARTORI *et al.*, 2010). No Brasil, a IATF foi a primeira ferramenta a ser utilizada no intuito de introduzir genética apurada no rebanho através da IA (SEVERO, 2015). Segundo dados da ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação Artificial) em 2014, estimam-se que 10% das fêmeas bovinas em reprodução sejam inseminadas, de um total de 56.160.000 fêmeas em reprodução (59% corte e 34% leite). A IATF é uma ferramenta que viabiliza o melhoramento do rebanho comercial, e consiste na manipulação hormonal da resposta ovariana, promovendo a sincronização da ovulação. A grande vantagem da utilização da IATF é a praticidade, facilidade na execução em fazendas, eficiência e repetitividade dos resultados obtidos, sem a necessidade de detecção de estro. Apesar do constante aprimoramento, a técnica ainda apresenta índices limitados, com média de 50% de prenhez (TORRES JUNIOR *et al.*, 2014; MACEDO, OLIVEIRA, e ROCHA, 2015). Os protocolos de sincronização da ovulação para IATF, de maneira geral, objetivam induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controlar a duração desta onda até o estágio pré-ovulatório, através de fontes de progesterona exógenas, induzindo assim a ovulação sincronizada nos animais tratados (BARUSELLI *et al.*, 2012). Vários tratamentos hormonais foram desenvolvidos em conformidade com as categorias animais,

minimizando o tempo de serviço e produzindo resultados satisfatórios, ou seja, gerando prenhez (SÁ FILHO *et al.*, 2011).

A seleção intensiva, ao longo dos anos, garantiu maior eficiência para produção de alimentos e precocidade sexual às raças taurinas, quando comparado com outras raças. No entanto, o gado europeu não se adapta facilmente em ambientes tropicais, possuindo baixa tolerância ao estresse térmico (SARTORI *et al.*, 2010). Em contrapartida a seleção indiana para raças zebuínas, fez-se muito mais tolerante ao estresse térmico, resistente a parasitoses e capaz de sobreviver à baixa disponibilidade nutricional. Desta forma, o *bos indicus*, é a raça produtora de carne mais adaptada as diversidade tropicais. Todavia, zebuínos, demonstram baixa eficiência em níveis reprodutivos e de produção leiteira (NOGUEIRA *et al.*, 2006). As fêmeas são mais tardias e possuem menor habilidade materna em comparação as taurinas. Durante o estágio curricular, observou-se a criação de bovinos produtores de carne, *bos indicus*, e a busca por precocidade sexual, eficiência reprodutiva, rentabilidade em programas de melhoramento genético e produtivo. A IATF foi à biotecnologia mais utilizada durante o estágio curricular supervisionado, aplicada em diversos manejos, de acordo com a disponibilidade de cada fazenda, buscando obter o maior número de fêmeas gestantes através da inseminação.

3.3.1 Efeito do touro

Antes da estação de monta a escolha por reprodutores e sêmen de genética e eficiência de concepção comprovadas é fundamental.

O perímetro escrotal é considerado requisito característico para herdabilidade genética, com indicativos para fertilidade. Esta característica pode ser correlacionada ao ganho de peso e características reprodutivas da progênie, tanto para fêmea e macho (SIQUEIRA e PINHO, 2013). Estudos realizados por Eler e colaboradores (2006), indicam que a medida do perímetro escrotal pode ser relacionada também com prenhez precoce, sendo considerada hereditária. Esta mesma correlação é encontrada em estudos tanto para *Bos taurus* e *Bos indicus*, sendo sugerida a realização da medida aos 18 meses de idade (VELAZQUEZ *et al.*, 2003). Dentre diversas discussões quanto à idade para realizar a medida do perímetro escrotal Moreira e colaboradores (2015), ressaltam que para determinar fertilidade em bovinos nelore,

a correlação entre perímetro escrotal aos 365 e 450 dias de idade mostrou ser eficiente, e possui relação direta com as características hereditárias, como a idade ao primeiro parto e tempo de gestação. A aplicabilidade desta estratégia mostra-se economicamente viável, de fácil manejo e baixo custo. Considerando este parâmetro, um item facilmente obtido durante o exame andrológico, desta forma, o perímetro escrotal é uma característica a ser observada durante a escolha dos reprodutores.

Outro item de relevada importância é a observação da viabilidade das amostras de sêmen criopreservado. A avaliação direta das partidas de sêmen a serem utilizadas nos programas de IATF ou TE, a partir do espermograma, é uma estratégia de grande impacto, e influi diretamente nos índices de prenhez. Segundo Papa e colaboradores (2006) a avaliação das amostras seminais após o descongelamento representa um componente indispensável para o sucesso dos programas de reprodução animal. Diversos métodos de análise laboratorial do sêmen bovino congelado têm sido desenvolvidos, no entanto, a correlação entre os parâmetros espermáticos e os índices de fertilidade *in vivo* ainda é variável. A influência dos diluentes, a integridade das células espermáticas após o descongelamento e armazenamento das amostras devem ser consideradas. No decorrer dos manejos acompanhados durante o estágio, observou-se a variação do efeito individual dos touros sobre a taxa de prenhez, com grandes variações conforme o touro e/ou partidas selecionadas (Figura 13) comprovando que esta variável deve ser levada em conta durante o planejamento da estação de monta. As amostras de sêmen criopreservadas utilizadas nos protocolos de IATF eram avaliadas de forma subjetiva e eram classificadas quanto taxa de motilidade (≥ 40), vigor (≥ 3), concentração ($\geq 10 \times 10^6$) e morfologia (defeito maior $< 10\%$ e defeito menor $< 20\%$). Segundo Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), os parâmetros para sêmen criopreservado consistem em motilidade espermática $\geq 30\%$, vigor ≥ 3 , concentração de espermatozoides por palheta semelhante a 10×10^6 , número de espermatozoides normais $\geq 70\%$ e até 10% de defeitos maiores. Com base em parâmetros morfológicos, diversos aspectos devem ser levados em consideração, como parâmetros para interpretação das amostras. Para a análises devem ser levados em consideração a distribuição dos defeitos individuais e os limites para defeitos maiores (até 20%), menores (até 30%), sempre respeitando o valor mínimo para espermatozoides normais, 70% (FRENEAU, 2011). Além da análise direta das partidas de sêmen, a empresa orienta aos clientes quanto a escolha por touros que apresentem índice para taxa de prenhez conhecida, e ainda mantém um banco de dados, com a taxa de prenhez por touro, preconizando o emprego de touros de fertilidade comprovada.

Ainda não se tem bem definido quais os parâmetros mais seguros para determinar fertilidade em touros. Os principais trabalhos desenvolvidos nas últimas duas décadas contemplam a adoção de técnicas computadorizadas de avaliação do movimento espermático, análise da integridade dos diferentes compartimentos dos espermatozoides, além dos testes de incubação e separação espermática para o acesso ao potencial de fertilização das amostras de sêmen congelado, uso de citometria de fluxo para avaliar integridade e permeabilidade de membrana, fertilização competitiva e *in vitro* (CRESPILHO, 2007; FREITAS-DEL'AQUA *et al.*, 2009 e SEIDEL JR., 2012). Estudos recentes, preliminares, investigam a associação de potenciais biomarcadores de fertilidade no plasma seminal e células espermáticas. Muhammed e colaboradores (2014) avaliaram as proteínas expressas nas células espermáticas (proteômica), e observaram a presença da expressão de proteínas correlacionadas com fertilidade ou subfertilidade dos touros avaliados como possuidores de baixa e alta fertilidade. Mundialmente estudam-se alguns possíveis biomarcadores para fertilidade, no entanto, estes dados necessitam ser mais discutidos, e mais estudos devem ser realizados, testando também a variabilidade das raças e ambientes.

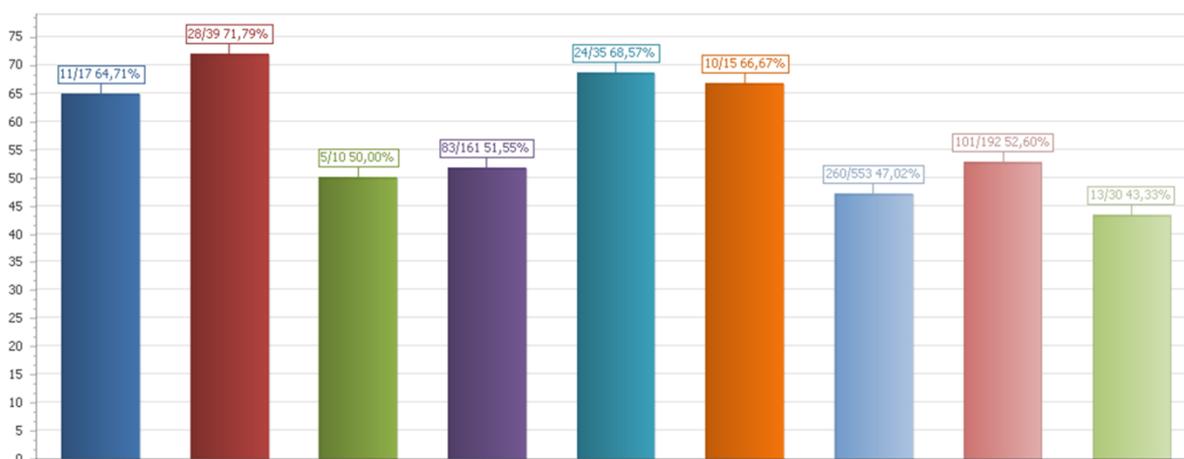


FIGURA 13- Variação individual por touro utilizado em programas de IATF, durante o ECSMV (Fonte: Geraembryo)

3.3.2 Precocidade sexual e eficiência reprodutiva

Estima-se que para novilhas a puberdade inicie entre 6 a 12 meses de idade (FORDE *et al.*, 2011). No entanto novilhas *Bos indicus* apresentam-se mais tardias quando comparadas as raças *Bos taurus*, ingressando em trabalho reprodutivo precoce aos 22-36 meses de idade (NOGUEIRA, 2004; SARTORI *et al.*, 2010). Comparando com a literatura, pôde ser observado durante o estágio o manejo das novilhas, entre 18 a 24 meses de idade, *Bos indicus* e cruzamento entre *Bos taurus x indicus*, no início da estação de acasalamento. As fêmeas jovens, apresentaram variação genotípica para taxa de ciclicidade. Segundo os dados obtidos da propriedade Santa Maria, foi observada uma diferença entrea taxa de ciclicidade de 42% (151/64) vs 64%(65/42) nas vacas *Bos indicus* e ½ sangue angus, respectivamente (Figura 19). Destas novilhas, 15% do total das fêmeas oriundas de cruzamento, já apresentavam prenhez, antes do início da estação de monta contra 1,3% das novilhas nelore (fato decorrente por um contratempo do manejo, onde houve uma intrusão errônea de touro no lote) comprovando assim a superior precocidade das fêmeas 1/2 sangue europeu.

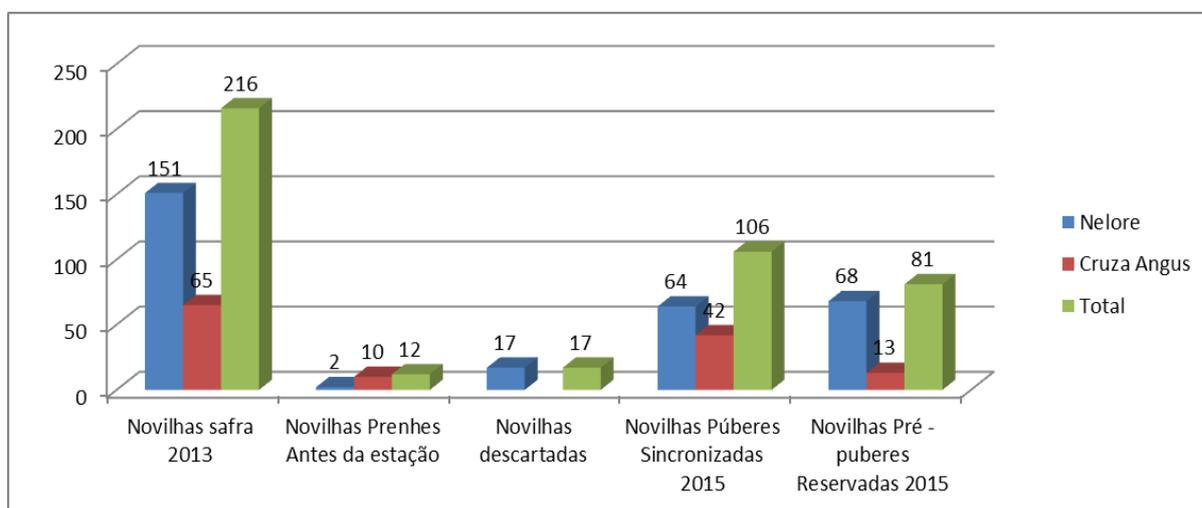


FIGURA 14- Total de novilhas, Fazenda Santa Maria (Paraná) durante a estação reprodutiva 2015/2016, taxa de prenhez antes da estação, taxa de novilhas descartadas, taxa de novilhas púberes e pré-púberes (Gentileza Fazenda Santa Maria).

O desencadear do início da puberdade depende de diversos fatores: ambientais, genético, fisiológico, hormonal, nutricional, psicossocial, assim como temperatura, heterose,

peso, idade e taxa de crescimento pós desmama (FORDE *et al.*, 2011; SARTORI e BARROS 2011; HAFEZ e HAFEZ 2004). Devemos considerar todas as fases de desenvolvimento associando com características genóticas e fenotípicas desde a vida intrauterina, a partir do crescimento dos ovários e do surgimento dos primeiros folículos. O folículo é a estrutura ovariana que desempenha a gametogênese e esteroidogênese. O crescimento dos folículos é modulado por uma gama de fatores de crescimento local (IGF1, leptina e insulina) que atuam via receptores presentes nas células da granulosa e teca. A demanda destes receptores durante o surgimento dos primeiros folículos possui relação direta com o estado nutricional e ECC das fêmeas gestantes. Comprovando isto, estudos realizados por Mossa e colaboradores (2012) avaliaram o efeito da restrição alimentar de fêmeas bovinas no primeiro trimestre de gestação, atuando sobre a foliculogênese fetal, que resultaram em redução de até 60% do número de folículos antrais. As condições nutricionais, também interferem na estimulação pituitária para secreção de gonadotrofinas, prejudicando o crescimento e maturação folicular. Além disto, o número e tamanho dos folículos antrais e pré antrais também variam entre as raças e/ou subespécies, sendo que os *Bos indicus* apresentam maior número de folículos antrais recrutados e menor taxa de crescimento folicular em comparação aos *Bos taurus* (SARTORI e BARROS, 2011). Fêmeas taurinas apresentam historicamente um menor *pool* de folículos antrais recrutados em relação aos animais ½ sangue (*taurus-índicus*), e zebuínos (SILVA-SANTOS, *et al* 2013). Algumas pesquisas mostraram variações de 7 a 50 folículos antrais para taurinos (IRELAND *et al.*, 2008) e de 8 a 145 para zebuínos (RODRIGUES *et al.*, 2015).

Em mamíferos, após iniciada a oogênese, uma reserva de folículos antrais emerge, resultando em crescimento e desenvolvimento dos folículos ovarianos. Isto ocorre mediado por um conjunto com fatores de crescimento, hormônios e citocinas produzidos localmente (MONNIOUX *et al.*, 2014). Estudos relatam que o número de folículos recrutados no início da onda de crescimento folicular em *Bos indicus*, está vinculado com a elevada concentração de IGF-I plasmática (SARTORELLI *et al.*, 2005). Contudo, ao observar a divergência folicular, o maior folículo antes da dominância, em zebuínos, apresenta menor diâmetro quando comparado a taurinos, 6,2 mm (GIMENES *et al.*, 2008) vs 8,5 mm (SARTORELLI *et al.*, 2005). Fêmeas zebuínas também apresentam folículos dominantes menorese com baixa resposta a ovulação, produzindo um CL de menor diâmetro em comparação com outros grupos raciais (CARVALHO *et al.*, 2008).

Durante o estágio foram acompanhados os manejos de novilhas, entre 18 a 24 meses de idade, em 5 fazendas, totalizando 1137 avaliações de ciclicidade. A estratégia utilizada visa selecionar apenas as novilhas aptas à responder ao protocolo hormonal. A porcentagem

de novilhas púberes aos 24 meses no início da estação de monta foi em média 70%. Desta forma, o manejo viabiliza o ciclo reprodutivo, aumentando a eficiência, e os índices de concepção após primeiro parto (RESENDE *et al.*, 2014). Segundo trabalho realizado por Mousel, Educator e Rapids, (2014) o intervalo de parição de novilhas durante o primeiro, segundo, ou posterior período após a parição (intervalo a cada 21 dias) está associado ao maior peso em Kg de bezerro desmamados. Novilhas que pariram bezerros no primeiro período obtiveram uma média, em kg de bezerro desmamados, de $206 \pm 0,3$ kg, os nascidos durante o segundo período, $194 \pm 0,5$ kg, e posteriormente os do terceiro período $174 \pm 1,1$ kg.

Para realizar a seleção das novilhas púberes, utilizou-se durante o estágio o exame ginecológico, a partir de palpação transretal e ultrassonografia. Novilhas diagnosticadas como pré púberes, eram segregadas, para posterior ingresso ao protocolo de IATF, junto ao próximo lote, mediante nova reavaliação após 30 dias. Segundo estudos de Atkins, Pohler, e Smith, (2013), a maturação e crescimento uterino e ovariano, com o estabelecimento da dinâmica folicular e regulação dos receptores neurais hipotalâmicos, ocorrem em associação. Estes fatores podem ser percebidos a partir do exame ginecológico interno, avaliando-se o grau de contratilidade uterina, diâmetro dos ovários, dinâmica folicular e presença de CL. Durante a maturação sexual, há uma maior sensibilização hipotalâmica ao estradiol ($ER\alpha$ no hipotálamo médio-basal), que mantém o *feedback* negativo sobre as secreções de GnRH. Com o aumento da idade, através da diminuição de receptores hipotalâmicos de estradiol associado a possíveis neurotransmissores estimulatórios (noraepinefrina, neuropeptídeo Y, aminoácidos excitatórios) ocorre o decréscimo da influência neuronal inibitória (opióides, GABA), levando a padronização do ritmo de liberação de LH (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007). Com a viabilização da ovulação, se estabelece um discreto corpo lúteo que secreta progesterona e proporciona uma curta fase lútea. Novilhas pré-púberes expressam o estro e a ovulação de forma independente, entre 7 a 10 dias, antes do primeiro estro ovulatório. Logo, estratégias de estimulação da ciclicidade podem ser úteis. Algumas pesquisas demonstram que a manipulação hormonal de novilhas, a partir da exposição estratégica á fontes com baixas concentrações de progesterona associadas a estrógeno antes da estação de monta e IATF, trazem efeitos benéficos, auxiliando a indução da ciclicidade, modulando a ação hipotalâmica e liberação de GnRH, melhorando a resposta ovulatória e formação de um CL (SÁ FILHO *et al.*, 2015). Embora não se tenha utilizado durante o estágio, protocolos de indução da ciclicidade de novilhas podem ser eficientes, pois a exposição previa a progesterona mantém

os níveis séricos que juntamente com aumento de estrogênio é fundamental para desencadear o estabelecimento da ciclicidade (NOGUEIRA, 2006; ATKIS, POHLER e SMITH, 2013).

3.3.3 Período pós parto

Com um período de gestação de aproximadamente 280 dias, as vacas devem conceber entre 80 e 85 dias pós parto para se obter um parto a cada 365 dias em média. Nas raças zebuínas, essa meta é mais difícil de ser alcançada em virtude do maior período de gestação, cerca de 10 dias a mais em relação às taurinas, devendo conceber entre 70 e 75 dias do pós-parto (MADUREIRA *et al.*, 1998). Durante o estágio, manejaram-se protocolos de IATF em 1595 vacas, sendo estas primíparas, secundíparas, múltíparas e vacas não gestantes na última estação. Os protocolos iniciaram entre 30 a 40 dias de parição. Para estabelecer uma nova concepção, é necessário que ocorra a limpeza e involução uterina, acompanhadas do retorno à ciclicidade. Para isto, tais mecanismos devem conciliar com o crescimento de um folículo saudável, desenvolvimento de um oócito competente, demonstração de cio, ovulação, fertilização e adesão uterina por um embrião viável (LEROY *et al.*, 2008). O anestro pós-parto é correlacionado a vários fatores ambientais, genéticos, fisiológicos e metabólicos que podem influir em maior tempo de anestro. Portanto, para obter o retorno da atividade cíclica ovariana em vacas de corte, é necessária que haja o restabelecimento das concentrações de gonadotrofinas, que durante este período são influenciadas por fatores fisiológicos e patológicos no pré e pós-parto (YAVAS e WALTON, 2000). Durante a gestação, a manutenção do CL é derivada do reconhecimento materno da prenhez; o que resulta em um *feedback* negativo sobre as secreções de gonadotrofinas, que atuam concomitante com a produção contínua de esteroides, estimulando o crescimento folicular (HESS *et al.*, 2005). A produção de grandes quantidades de esteróides por parte da placenta, especialmente estradiol e progesterona exercem efeitos negativos sobre hipotálamo, resultando em supressão do GnRH (SHORT *et al.*, 1990), impedindo o desenvolvimento e maturação folicular (LUCY, Mc DOUGALL, E NATION, 2004). Esta secreção contínua de esteróides esgota as reservas de LH hipofisário, que em situações fisiológicas normais, pode ser recuperado em até 30 dias após o parto (HESS *et al.*, 2005).

Os principais fatores que contribuem para o atraso na retomada da atividade hipotalâmica-hipofisária-gonadal pós-parto são: subnutrição, lactação e a presença constante do terneiro (MONTIEL & AHUJA, 2005). Este quadro pode tornar-se mais danoso quando se equiparam vacas primíparas, e principalmente vacas de corte, que dependem das condições forrageiras em regiões tropicais. No decorrer das atividades realizadas durante o estágio, reparou-se uma forte correlação entre ECC e taxa de gestação entre as categorias manejadas. As reservas energéticas necessárias para manutenção do crescimento, metabolismo, lactação e retomada da atividade ovariana podem ser mensuradas através do ECC. Apesar de se tratar de uma avaliação subjetiva, esta, reflete as condições nutricionais de cada indivíduo e auxilia no delineamento, seleção e manejo dos protocolos de sincronização do estro e ovulação.

Primeiramente, deve-se salientar a correlação existente entre o ECC, e aos níveis de leptina, o IGF-I e insulina (LEÓN *et al.*, 2004), e o início da atividade ovariana pós-parto (HESS *et al.*, 2005). Estudos elaborados por Samadi e colaboradores (2014), utilizando vacas zebuínas mestiças, mantidas em pastagem melhorada e pasto padrão, antes e depois do parto, constataram maiores concentrações de leptina e IGF1 circulantes, e melhor eficiência no retorno ao cio em fêmeas do primeiro grupo (mantidas em pastagem melhorada), devido a manutenção do ECC. Isto ocorre por que as concentrações do hormônio protéico, leptina, são reguladas por adipócitos. A leptina é um importante regulador da secreção de insulina, que por sua vez atua sobre o metabolismo endócrino e eixo reprodutivo. A insulina associado à glicose promove estímulo sobre hipotálamo promovendo a liberação de GnRH e facilita produção de IGF1 no fígado, participando da estimulação da esteroidogênese (WEBB, *et al.*, 2004). Outra relação que pode ser destacada, são quanto aos níveis de glicose disponível no organismo, que atuam como "combustível" aos estímulos do SNC. Em vista disso, baixas concentrações de energia interferem negativamente na resposta neuroendócrina em estimular gonadotrofinas (HESS *et al.*, 2005). A interação da mãe com o a cria também estimula resposta metabólica, neural e induz a liberação de hormônios reguladores (opióides, glicocorticóides, prolactina) que geram efeito inibitório na liberação de GnRH e/ou LH, ou ainda uma incapacidade da hipófise em responder adequadamente ao estímulo do GnRH. Essa supressão da atividade ovariana durante o pós-parto imediato é uma característica de vacas de corte amamentando (PETER *et al.*, 2009). Observou-se durante os manejos das diferentes categorias animal a influencia do planejamento nutricional, sobre a manutenção de um bom ECC (≥ 3) e desempenho reprodutivo. (Tabela 3)

TABELA 3 - Taxa de prenhez, conforme escore de condição corporal e lotes por categoria animal, referentes a Fazenda Cachoeira, dados 2014/2015 (Fonte: Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária).

Taxa de Prenhez (% / número de animais)						
ECC	2	2,5	3	3,5	4	TOTAL
PRIMÍPARA	100 (1/1)	38,46 (5/13)	47,54 (29/61)	38,89 (14/36)	100 (1/1)	44,64 (50/112)
VACA MULTÍPARA	41,18 (21/51)	49,37 (156/316)	52,60 (182/346)	67,27 (37/55)	100 (1/1)	51,63 (397/769)
SOLTEIRA	-	-	60 (15/25)	26,32 (5/19)	0 (0/2)	42,55 (20/47)
NOVILHA	-	-	58,49 (31/53)	50,72 (35/69)	100 (2/2)	54,84 (68/124)
TOTAL	42,31 (22/52)	48,79 (161/330)	52,99 (257/485)	50,84 (91/179)	66,67 (4/6)	50,86 (535/1052)

3.3.4 Manejo hormonal

Durante estágio os manejos dos protocolos de IATF utilizados, incluíam fontes de progesterona (P4) utilizadas por 8 a 9 dias, associado ao benzoato de estradiol (BE), propiciando surgimento de uma nova onda folicular (MORENO *et al.*, 2001). A presença da P4 exógena, promove a supressão de FSH e LH e emergência de uma nova onda, sendo dependente da diminuição das concentrações de E2 e do ressurgimento do FSH (O'ROUKER 2000). Para novilhas cíclicas, uma dose de PGF2 α (ou análogo) era administrada no dia da inserção do implante de P4, a fim de promover a luteólise do CL vigente, evitando assim, o aumento exacerbado das concentrações de P4 (endógena /exógena), e conseqüente atraso na divergência do folículo dominante (CARVALHO *et al.*, 2008). Para indução da ovulação, é necessário reduzir a concentração de P4. Desta forma era removido o dispositivo de P4 e realizada a aplicação de um agente luteolítico (PGF2 α ou análogo), associado a um éster de E2, o CE, para promover o aumento na liberação de LH. Com a finalidade de potencializar o crescimento final do folículo dominante, era administrado eCG, com o objetivo de melhorar as taxas de ovulação e, conseqüentemente, prenhez (YAVAS e WALTON, 2000). Na continuação do protocolo, 48h após era então realizada a IATF, salve exceções, em que foi feito o uso experimental de sêmen sexado. Neste último caso, a IATF, era realizada em 60h

após a remoção do dispositivo. Esta estratégia era utilizada devido à baixa concentração espermática na palheta e ao estágio de capacitação espermática, a qual era iniciada durante a seleção e sexagem dos espermatozoides. Estudos realizados por (SALLES *et al.*, 2011) sugerem que a inseminação ocorra em tempo mais próximo à ovulação; os autores compararam o intervalo decorrente da remoção do progestágeno até a ovulação, com variação de 22 a 66h, com taxa de ovulação de 80 a 92,5% para vacas leiteiras e de corte, respectivamente.

3.3.4.1 Progesterona

A progesterona é amplamente utilizada para impedir que ocorra uma ovulação, estagnando a fase lútea. Este hormônio é encontrado na forma de dispositivos intravaginais de silicone, ou na forma sintética de progestina, em implantes de silicone auriculares. Sua atuação impede o aumento da frequência dos picos de LH, impedindo assim a ovulação, e o comportamento de estro (ADAMS, MATTERI, e GINTHER, 1992). Dentre as formas comercializadas, encontram-se implantes intravaginais de silicone, impregnados com progesterona, de liberação prolongada (1,9, 1,2, 1, 0,75, 0,6 e 0,558g de P4) e implantes auriculares de silicone, impregnados com progestina (3 e 6mg Norgestomet,). Com a finalidade de reduzir custos de tratamento, observou-se a reutilização dos implantes, que podem proceder de forma eficiente (2, 3 e até 4 vezes no caso de novilhas zebuínas), desde que sejam desinfetados e conservados adequadamente.

As concentrações remanescentes de P4 nos dispositivos são variáveis, assim como a eficiência do tratamento pode diferir, conforme a variabilidade fisiologia (sensibilização e metabolização) entre os grupos genéticos. Neste âmbito, pesquisas como a de Neri e colaboradores (2015), questionam a inconstância das quantidades de progesterona remanescentes em implantes vaginais reutilizados, mensurando a quantidade de P4 endógena plasmática e a relação com o dispositivo utilizado no tratamento exógeno. A liberação de P4 ocorre de acordo com o gradiente de concentração plasmática, tornando variável a concentração de P4 remanescente nos implantes reutilizados. Estes resultados corroboram com os de Martins e colaboradores (2014) em que as condições fisiológicas como anestro, início do estro ou final do estro também interferiram. Em protocolos instituídos na fase inicial do diestro, o dobro de P4 foi remanescente em comparação aos executados durante o anestro

(14,7% vs 7,9%). Estudos realizados por Medalha e colaboradores (2015) avaliaram a taxa de prenhez, e obtiveram taxas mais baixas para o grupo que recebeu implante de primeiro uso em relação aos demais grupos, 44,8% (156/348), 51,1% (213/417) e 51,1% (210/411) (primeiro, segundo e terceiro uso, respectivamente). Corroborando com estes achados, estudos semelhantes atingiram taxas de concepção satisfatórias, apesar da utilização de baixas concentrações de P4, comprovando que são suficientes para promover a sincronização de crescimento folicular e ovulação (SALES *et al.*, 2015).

Alguns achados recentes da empresa Geraembryo, mostram um aumento das taxas de concepção, em cerca de 3 pontos percentuais, de fêmeas que receberam implante de progesterona monodose, sugerindo melhor aproveitamento sobre a taxa de prenhez em vacas nelore. Resultados mais precisos serão observados no final da estação. Contudo, baixas doses de P4 nos protocolos de IAFT, parecem ser eficientes. Pesquisa realizada por Cipriano e colaboradores (2011) utilizando novilhas, confirmou que altas concentrações de P4 séricas (aproximadamente 4,5 ng / ml) podem comprometer a liberação pulsátil de LH e taxa de crescimento folicular, principalmente em bovinos *Bos indicus*, em comparação à *Bos taurus*. Sendo que, em baixas concentrações apresentam taxas de concepção satisfatórias em protocolos de IATF (CARVALHO, 2008).

3.3.4.2 Ésteres de estradiol

Ésteres de estradiol são amplamente utilizados em protocolos de IATF, para realizar a sincronização da onda de crescimento folicular a partir da sua associação com P4, ao início do protocolo. O mesmo éster de estradiol, assim como GnRH, são empregado também na indução e sincronização da ovulação. As moléculas comercializadas na América do Sul, mais utilizadas, são o BE e o CE (MACEDO *et al.*, 2015). Dentre estes ésteres, observam-se efeitos farmacocinéticos que diferem conforme o tempo de ação entre administração e promoção dos picos de LH. Sendo que o BE apresenta menor tempo de ação quando comparado ao CE, sendo observado a ocorrência de pico de LH entre BE vs CE em 21,5hvs 45h (CREPALDI, 2009) e 19,6 vs 50,5 h (SALES *et al.*, 2012), sem apresentar diferenças significativas para taxas de crescimento folicular, ovulação ou taxa de prenhez. Reforçando esta hipótese, estudos realizados por Torres-Junior e colaboradores (2014), mostraram que o tipo de éster

(BE vs. CE) não alteram a taxa de ovulação. Quanto às doses mais indicadas, o mesmo autor observou, que em vacas 0,5 mg de CE resultou em menor sincronização da ovulação quando comparado a 1,0 mg da mesma molécula. Já em novilhas, tratadas com CE, concentrações elevadas de estradiol plasmático podem suprimir a liberação de FSH endógeno (COLAZO, KASTELIC, & MAPLETOFT, 2003), devido a alta sensibilidade em resposta ao estrogênio. Por tanto, durante o estágio curricular, as novilhas foram tratadas no momento da indução da ovulação com 0,5mg, e vacas com 1mg de CE.

3.3.4.3 Prostaglandinas

Análogos de PGF₂ α , são os mais indicados para promoção de luteólise, reduzindo o fluxo sanguíneo para o corpo lúteo. Este hormônio é encontrado na forma sintética, como nas moléculas Cloprostenol sódico e Dinoprost trometamina. Algumas pesquisas desenvolvidas buscam avaliar a eficiência das doses utilizadas destes fármacos. Sendo observada a redução da dose de Cloprostenol sódico em algumas marcas comerciais, quando empregado em protocolos de IATF em vacas zebuínas. Estas distintas concentrações utilizadas foram experimentalmente testadas e publicadas pelo grupo da Geraembryo (SILVA *et al.*, 2012), onde diferentes doses de cloprostenol sódico (Ciosin®) foram utilizadas sem diferir nas taxas de prenhez de vacas lactantes e novilhas nelore ciclando e sincronizadas, apresentando para vacas os resultados de prenhez em 375 μ g de Ciosin®= 55,1% (173/314) e 250 μ g = 59,3% (185/312); e em novilhas 500 μ g = 60,8% (93/153); 375 μ g= 50,2% (76/151) e 250 μ g= 59,5% (91/153). Com base nestes resultados e em experimentos não publicados, a dose de cloprostenol sódico utilizada durante o estágio variou entre a dose recomendada e meia dose quando eram utilizados Ciosin® e Estron®, 0,250 mg e 0,24 mg respectivamente.

3.3.4.4 Gonadotrofina Coriônica Equina

O tratamento com Gonadotrofina coriônica equina (eCG) possui propriedade peculiar, ativando receptores de FSH e LH. É responsável por aumentar as taxas de crescimento

folicular ovariano e ovulação após a remoção do implante, melhorando a sincronia da ovulação, e as taxas de prenhez em vacas lactantes e em condições de anestro pronunciada, facilitando a aplicação dos programas de melhoramento genético de maneira mais eficiente (SÁ FILHO et al., 2010; BARUSELLI *et al.*, 2004). Os tratamentos associados a eCG, aumentam a frequência de ovulações múltiplas e resulta em elevada circulação de progesterona (NOGUEIRA *et al.*, 2004). Durante o estágio utilizou-se as concentrações de 400 e 300 UI para aumentar a taxa de crescimento folicular, sendo a primeira utilizada em vacas primíparas e com ECC inferior a 2,5 e a segunda dose nas demais fêmeas. De acordo com alguns estudos, a dose de eCG tradicional, 400UI, pode ser reduzida para 300 UI, sem comprometer os resultados de prenhez em vacas *Bos indicus* (SÁ FILHO *et al.*, 2010), sustentando que esta raça possui mais sensibilidade a gonadotrofinas quando comparadas a raças taurinas. Outros estudos mais recentes, com ressincronização de vacas lactantes *Bos indicus*, sugerem ainda a redução para 200UI de eCG. Estudos em vacas *Bos taurus* amamentando não apresentaram melhoras significativas (MARQUEZINI et al., 2013), comparado com 300UI, sem apresentarem diferença estatística em índices de prenhez entre os grupos (DOROTEU, OLIVEIRA e PIVATO; 2015). Para vacas taurinas, estudos recentes avaliaram também a redução da dose de 400 para 300 UI e mostraram que a redução da dose não interferiu negativamente sobre a dinâmica folicular, demonstração de estro ou prenhez por inseminação (PESSOA *et al.*, 2015). Avaliando-se assim, que a dosagem de 300 UI, pode ser bem indicada para novilhas e vacas que apresentem bom ECC, levando em consideração primíparas e vacas magras a recomendação de 400 UI pode ser mais segura.

3.3.5 Diagnóstico de gestação precoce e ressincronização

A busca por melhorar a eficiência reprodutiva dos bovinos é constante. As estratégias empregadas visam reduzir o anestro pós-parto e o intervalo entre partos (terneiro/vaca/ano). O diagnóstico de gestação precoce é uma ferramenta indispensável na busca por melhor desempenho reprodutivo do rebanho de corte submetido a manejos de IATF. Dados obtidos a partir do diagnóstico de gestação precoce permitem designar a situação reprodutiva dos animais, oportunizando reduzir o intervalo entre inseminações associados à implementação da ressincronização. Cerca de 30 dias de gestação pode ser percebida uma leve assimetria entre

os cornos uterinos, nem sempre detectável via palpação transretal. Com auxílio diagnóstico por ultrassonografia, pode ser visualizada a diferença ecogênica entre os tecidos comprovando a prenhez, onde se identifica a presença de líquidos fetais (aneicóico), embrião (hiperecóico) e batimentos cardíacos.

Várias pesquisas já constataram a eficiência e aplicabilidade do diagnóstico de gestação precoce no manejo da IATF, seguido de ressincronização. Os primeiros resultados obtidos por Marques e colaboradores (2012), ao reunir dados obtidos pela Geraembryo, entre a estação de monta 2009/2010 utilizando IATF seguida de diagnóstico precoce aos 30 dias após a primeira inseminação, e implementação imediata de programas de ressincronização, com intervalo de 40 dias entre inseminações, obtiveram 77,8% (7.556/9.717) de prenhez. Outros estudos realizados por Marques e colaboradores (2015) relataram a eficiência da utilização da IATF seguida de diagnóstico de gestação e ressincronização, totalizando 3 inseminações em intervalo de 80 dias, o que resultou em uma taxa de prenhez de 85% para novilhas, 76% primíparas e 78% para múltiparas. Otimizando ainda mais o curto intervalo entre inseminações, e comprovando a eficiência do método de ressincronização. Resultados descritos por Sá Filho e colaboradores (2014), ao iniciarem o protocolo de ressincronização aos 22 dias da primeira inseminação, com a realização do diagnóstico de gestação aos 30 dias da inseminação (D8 do protocolo), durante a remoção do implante de P4, dando sequência ao protocolo apenas nas fêmeas não gestantes, obtiveram aproximadamente 75% de prenhez, em apenas 32 dias de intervalo entre inseminações. Durante o estágio curricular, foram manejados os diagnósticos de gestação precoce e ressincronização aos 30 dias após inseminação e em uma propriedade, as vacas foram sincronizadas aos 22 dias e diagnosticadas no momento da retirada do implante de P4, dando sequência a indução da ovulação apenas em vacas não prenhes. Os dados descritos anteriormente, associados aos dados constatados durante o estágio, sugerem alta eficácia da utilização de IATF seguida de ressincronização, que além de aumentar o número de terneiros obtidos por IA, garante melhor padronização de uma curta estação de parição e eficiente manejo das fêmeas não gestantes (Tabela 4).

TABELA 4- Resultados de IATF e ressincronização, Faz. Marimbondo, estação de monta 2014/2015 (Fonte: Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária).

Taxa de Prenhez (% e número de animais)			
Categoria	1º IATF	RESSINCRONIZAÇÃO	IATF + RESSINCRONIZAÇÃO
NOVILHA	59,04 (49/83)	70,59 (24/34)	87,95 (73/83)
PRIMÍPARA	67,42 (60/89)	68,97 (20/29)	89,89 (80/89)
VACA	63,10 (265/420)	68,15 (92/135)	85 (357/420)
MULTÍPARA			
SOLTEIRA	47,06 (8/17)	77,78 (7/9)	88,24 (15/17)
TOTAL	62,73 (382/609)	69,08 (143/207)	86,21 (525/609)

4 CONCLUSÃO

A pecuária é uma atividade extremamente desafiadora, principalmente quando se vislumbra aumentar os ganhos reprodutivos. As Biotecnologias da Reprodução quando bem manejada, podem ser consideradas o diferencial em uma propriedade pecuária, pois auxiliam na busca por eficiência no sistema de produção, e tornam a empresa mais competitiva, possibilitando o aumento de produção, e oportunizando a aquisição e qualidade, o que viabiliza a rentabilidade e lucratividade da atividade. Salientando que a sanidade e o balanço nutricional são a base para o incremento de qualquer tecnologia.

O período dedicado ao estágio final possibilitou o aprimoramento do conhecimento e habilidades práticas adquiridas durante a graduação. Foi um período de vasta importância, que trouxe novas oportunidades e experiências práticas distintas, onde as atividades desenvolvidas englobaram diversas áreas do conhecimento.

Durante o estágio, constatou-se o valor do conhecimento prático e a importância da pesquisa, sendo estas ferramentas indispensáveis para atingir a excelência e agregar qualidade à vida profissional. Estas características foram identificadas a partir do conhecimento, experiência e dinamismo dos supervisores e orientador, durante as dinâmicas desenvolvidas no decorrer do estágio.

As metas impostas desde o início do estágio foram cumpridas. Durante todas as fases vivenciadas, a troca de experiências, o pensamento crítico e as relações interpessoais foram exercitados e ampliados. Através do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, foi possível reafirmar a escolha pela área de atuação profissional. Sendo de fundamental importância para motivar a constante busca pelo conhecimento e aperfeiçoamento das habilidades que englobam a área da Reprodução.

Referências Bibliográficas

(ASBIA) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Index Asbia Mercado** 2014. p. 30, 2014.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journal of reproduction and fertility**, v. 96, p. 627–640, 1992.

ASLAM, M. K. M. et al. Identification of putative fertility markers in seminal plasma of crossbred bulls through differential proteomics. **Theriogenology**, v. 82, n. 9, p. 1254–62.e1, 2014.

ATKINS, J. A.; POHLER, K. G.; SMITH, M. F. Physiology and endocrinology of puberty in heifers. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 29, n. 3, p. 479–92, 2013.

BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Anim Reprod Sci**, v. 82-83, p. 479–486, 2004.

BICALHO, M. L. S. et al. Association between virulence factors of Escherichia coli, Fusobacterium necrophorum, and Arcanobacterium pyogenes and uterine diseases of dairy cows. **Veterinary Microbiology**, v. 157, n. 1-2, p. 125–131, 2012.

BICALHO, R. C. et al. Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine Escherichia coli. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 12, p. 5818–30, 2010.

BRAGANÇA, J. F. M. Estratégias hormonais de indução/sincronização de estro e novilhas de corte entre 12 e 14 meses de idade. **Dissertação de Doutorado**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, 2007..

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. D. P. NEUROENDOCRINE MECHANISMS IN PUBERTY HEIFERS. **Arq. Cienc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama**, v. v. 10, n. November, p. 59–67, 2007.

CARVALHO, J. B. P. et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos indicus, Bos indicus x Bos taurus, and Bos taurus heifers. **Theriogenology**,

v. 69, n. 2, p. 167–75, 2008.

CIPRIANO, R. S. et al. LH and FSH concentration and follicular development in Nellore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal reproduction science**, v. 127, n. 1-2, p. 16–22, 2011.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 855–865, 2003.

CREPALDI, G. A. Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF. **Dissertação Mestrado** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2009.

CRESPILHO A M, 2007. Efeito do meio doluidor e da dose inseminante sobre a congelabilidade e fertilidade do sêmen bovino utilizado em programas de inseminação artificial em tempo-fixado (IATF). **Dissertação mestrado**. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2007.

DUBUC, J. et al. Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1325–1338, 2011.

ELER, J. P. et al. Genetic correlation between heifer pregnancy and scrotal circumference measured at 15 and 18 months of age in Nellore cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 5, n. 4, p. 569–80, 2006.

FERNANDES, C. A. C. et al. Uso do cloprostenol para tratamento de infecção uterina em vacas sem corpo lúteo. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 21, n. 1, p. 60–63, 2014.

FILHO, M. F. S. et al. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 132–139, 2011.

FORDE, N. et al. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 163–169, 2011.

FREITAS-DEL'AQUA. et al. Metodologia de avaliação laboratorial do sêmen congelado bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.33, n.4, p.213-222, 2009

FRENEAU, G. E. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.160-170, 2011.

GIMENES, L. U. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852–858, 2008.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7^a. ed. Barueri: Manole, 2004.

HAIMERL, P.; HEUWIESER, W.; ARLT, S. Therapy of bovine endometritis with prostaglandin F₂ I: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 5, p. 2973–2987, 2013.

HENRY, M., NEVES, J. P., JOBIN, M.I.M., **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, p. 29-30, 2013

HESS, B. W. et al. Nutritional controls of beef cow reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. E90–E106, 2005.

IBGE. Indicadores BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, p. 14–49, 2015.

IRELAND, J. L. H. et al. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of reproduction**, v. 79, n. 6, p. 1219–1225, 2008.

JÚNIOR, A P. M.; MARTINS, T. M.; BORGES, A M. Abordagem diagnóstica e de tratamento da infecção uterina em vacas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 293–298, 2011.

LEBLANC, S. J. et al. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2237–49, 2002.

LEÓN, H. V et al. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. **Journal of animal science**, v. 82, n. 2, p. 445–51, 2004.

LEROY, J. et al. Nutrient Prioritization in Dairy Cows Early Postpartum: Mismatch Between Metabolism and Fertility? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 96–103, 2008.

LUCY, M. .; MCDOUGALL, S.; NATION, D. . The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 495–512, 2004.

MACEDO, G. G.; OLIVEIRA, M.; ROCHA, C. D. Sincronização da ovulação : como mimetizar ainda mais a fisiologia da reprodução para obter melhores resultados ? **Rev Bras Reprod Anim. Supl. Belo Horizonte**, v. 2, n. 1, p. 41–46, 2015.

MACHADO, V. S.; BICALHO, R. C. The infectious disease epidemiologic triangle of bovine uterine diseases. **Animal reproduction**, n. 2011, p. 450–464, 2015.

MADUREIRA, E. H. et al. Sincronização com progestágenos. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)**, p. 117–128, 1998.

MARQUES, M. O. et al. Influence of category - heifers, primiparous and multiparous lactating cows - in a large-scale resynchronization FTAI program. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, n. 3, p. 367–371, 2015.

MARQUEZINI, G. H. L. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin on follicle development and pregnancy rates in suckled beef cows with or without calf removal. **J Anim Sci**, v. 91, n. 3, p. 1216–1224, 2013.

MARTÍNEZ-VELÁZQUEZ, G. et al. Genetic relationships between scrotal circumference and female reproductive traits. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 395–401, 2003.

MARTINS, T. et al. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 81, n. 3, p. 446–53, 2014.

MEDALHA ET AL., 2015. Utilização do dispositivo intravaginal de progesterona , em até três usos , para inseminação artificial em tempo fixo de fêmeas *Bos indicus* Evaluation of intravaginal progesterone device , in until three uses , in fixed-time artificial insemination in “ **B. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v. v. 16, n. n.2, p. 458–469, 2015.

MILKPOINT. Resumo. **Levantamento top 100-2015, Os 100 maiores produtores de leite do Brasil**, 2015.

MONNIAUX, D. et al. The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of

antral growing follicles: what is the link? **Biology of reproduction**, v. 90, n. 4, p. 85, 2014.

MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Animal Reproduction Science**, v. 85, n. 1-2, p. 1–26, 2005.

MOREIRA, H. L. et al. Reproductive traits selection in nelore beef cattle. Seleção para características reprodutivas em bovinos de corte da raça Nelore . *Ciênc. Agrotec., Lavras*, v. 39, n. 4, p. 355-362, jul./ago., 2015

MORENO, D. et al. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing device, estradiol benzoate, and progesterone. **Theriogenology**, v. 55, n. 1, p. 4–5, 2001.

MOSSA, F. et al. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 5, p. 2355–61, 2012.

MOUSEL, E. M.; EDUCATOR, E. C.; RAPIDS, G. Effect of heifer calving date on longevity and lifetime productivity. **Driftless Region Beef Conference**, p. 37–42, 2014.

NERI, H.I.D. ET AL., 2015. tratadas com implantes vaginais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 67, n. 2, p. 405–410, 2015.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South American *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 361–372, 2004.

O'ROURKE, M. et al. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 59, n. 1-2, p. 1–12, 2000.

PAPA, F. O. et al. Impacto do sêmen no sucesso dos programas de IATF: métodos básicos e avançados de avaliação. **Biotecnologia da reprodução aplicada em bovinos** (3º Simpósio internacional de reprodução aplicada), v. 3, p. 78–94, 2006.

PEREIRA, M. H. C. et al. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F₁ treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 2, p. 947–959, 2015.

PESSOA, G. A. et al. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, 2015.

PETER, A. T. et al. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 71, n. 9, p. 1343–57, 2009.

PIEPENBRINK, M. S. et al. Feeding 2-Hydroxy-4- (Methylthio) -Butanoic Acid to Periparturient Dairy Cows Improves Milk Production but not Hepatic Metabolism *. **Journal of Dairy Science**, n. 127453, p. 1071–1084, 2004.

PLETICHA, S.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Evaluation of the Metricheck device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 11, p. 5429–5435, 2009.

RESENDE A. O. ET AL., 2014. Eficiência reprodutiva de fêmeas primíparas da raça nelore. **Archives of Veterinary Science**, v. v. 19, n. 3, p. 47–52, 2014.

RODRIGUES, A. S. et al. Contagem de folículos antrais em fêmeas Nelore submetidas a inseminação artificial em tempo fixo 45. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 7, p. 711–717, 2015.

SÁ FILHO, M. F. et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, n. 5, p. 651–658, 2010.

SÁ FILHO, M. F. et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 81, n. 2, p. 284–90, 2014.

SÁ FILHO, M. F. et al. Impact of progesterone and estradiol treatment before the onset of the breeding period on reproductive performance of *Bos indicus* beef heifers. **Animal reproduction science**, v. 160, p. 30–39, 2015.

SALES, J. N. S. et al. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 427–35, 2011.

SALES, J. N. S. et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the

induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012.

SALES, J. N. S. et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v. 83, n. 6, p. 1093–1100, 2015.

SAMADI, F. et al. Nutrition, metabolic profiles and puberty in Brahman (*Bos indicus*) beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 146, n. 3-4, p. 134–142, 2014.

SARTORELLI, E. S. et al. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, n. 9, p. 2382–2394, 2005.

SARTORI, R. Manejo reprodutivo da fêmea leiteira. **Reprodução Animal**, v. 31, n. Xvii, p. 153–159, 2007.

SARTORI, R. et al. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, v. 67, p. 357–375, 2010.

SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 244–250, 2011.

SARTORI, R.; MOLLO, M. R. Influence of feed intake on the reproductive physiology of the cow. **Rev Bras Reprod Anim**, p. 197–204, 2007.

SEIDEL JR, G.E. Diversas abordagens sobre a avaliação de sêmen. **Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, p.222-225. 2012

SEVERO, N. C. História da inseminação artificial no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.39, n.1, p.17-21, jan./mar. 2015 p. 17–21, 2015.

SHELDON, I. M. et al. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516–1530, 2006.

SHELDON, I. M. Genes and environmental factors that influence disease resistance to microbes in the female reproductive tract of dairy cattle. **Reproduction, fertility, and development**, v. 27, n. 1, p. 72–81, 2014.

SHORT, R. E. ET AL. Physiological Mechanisms Controlling Anestrus and Infertility in

Postpartum Beef Cattle. **J Anim Sci**, v. 68, p. 799–816, 1990.

SILVA, R. C. P. ET AL. É possível reduzir a dose de Ciosin® no protocolo de IATF de novilhas cíclicas e vacas Nelore lactantes. **Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, p. 382, 2012.

]

SILVA-SANTOS, K. C. et al. Ovarian follicle reserve : emerging concepts and applications. **Animal Reproduction Science**, v. 10, n. 3, p. 180–186, 2013.

SIQUEIRA, J. B.; PINHO, R. O. Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte : uma revisão. **Rev Bras Reprod Anim. Supl. Belo Horizonte**, v. 37, n. 1, p. 3–13, 2013.

STRINGFELLOW, D.A.; S EIDEL, S.M. (Eds.). **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. Jaboticabal: SBTE, P.112 -113, 1998.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S. et al. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 151, n. 1-2, p. 9–14, 2014.

WEBB R., et al., Ovarian follicular dominance : the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **American Society of Animal Science**. p. 139–146, 1997.

WEBB, R. et al. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. **J Anim Sci**, v. 82, p. E63–74, 2004.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, n. 1, p. 25–55, 2000.

ANEXOS A- Certificado de Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária NUPEEC.



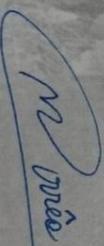
Faculdade de Veterinária
Departamento de Clínicas Veterinária
www.ufpel.edu.br/nupeec



CERTIFICADO

Certifico que **Hirya Fernandes Pinto**, realizou estagio Curricular, junto ao Departamento de Clínicas Veterinária desta instituição no período de 03/08/2015 a 18/09/2015 (280 hs), como atividade referente a participação no Projeto NUPEEC (Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária) sob código no COCEPE/UFPel 52.75.10.34.

Pelotas, 18 de setembro de 2015



Marcio Nunes Corrêa – M.C.; Dr.
Professor Associado - Coordenador do NUPEEC
(53) 9983 9408 - marcio.nunescorreia@pesquisador.cnpq.br

Marcio Nunes Corrêa
Professor Associado - M.C.Dr.
Fca. Veterinária - UFPel

ANEXO B - Certificado de Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária Geraembryo Assessoria e Consultoria Pecuária.

